

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公表特許公報 (A)

(11) 特許出願公表番号

特表2002-500907

(P2002-500907A)

(43) 公表日 平成14年1月15日 (2002.1.15)

(51) Int.Cl.⁷

A 6 1 B 1/00
10/00

識別記号

3 0 0

F I

A 6 1 B 1/00
10/00

テマコード (参考)

3 0 0 D 4 C 0 6 1
E

審査請求 未請求 予備審査請求 有 (全 65 頁)

(21) 出願番号 特願2000-528202(P2000-528202)
(86) (22) 出願日 平成11年1月26日(1999.1.26)
(85) 翻訳文提出日 平成12年7月25日(2000.7.25)
(86) 国際出願番号 PCT/US 99/01723
(87) 国際公開番号 WO 99/37204
(87) 国際公開日 平成11年7月29日(1999.7.29)
(31) 優先権主張番号 60/072,455
(32) 優先日 平成10年1月26日(1998.1.26)
(33) 優先権主張国 米国 (US)

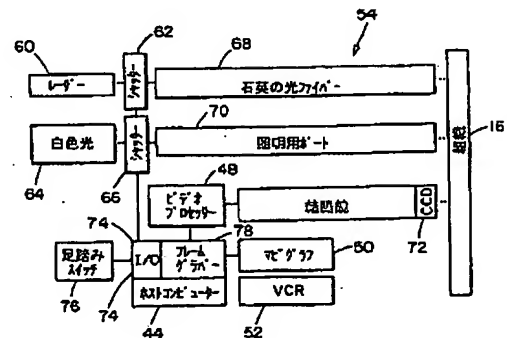
(71) 出願人 マサチューセッツ・インスチテュート・オブ・テクノロジー
MASSACHUSETTS INSTITUTE OF TECHNOLOGY
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02139・ケンブリッジ・マサチューセッツアベニュー77
(72) 発明者 ワング, トーマス・デイ
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02138ケンブリッジ・アルバニーストリート143・アパートメント226ビー
(74) 代理人 弁理士 小田島 平吉

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 蛍光画像化用内視鏡

(57) 【要約】

本発明は、蛍光内視鏡画像化システム (40) に関する。本システムは、検査される組織 (16) の蛍光像及び反射像を提供するための第1及び第2の光源 (60) を使用する。両方の像を収集するために内視鏡 (54) の末端に取り付けられた画像化装置 (72) が使用される。



【特許請求の範囲】

【請求項 1】 第 1 の光源及び第 2 の光源と光学的に結合された光ガイド

を有しかつ末端に画像センサーを有する内視鏡を準備し、

画像センサーにより反射像を集めて基準値を作成し、

画像センサーにより蛍光像を集め、そして

処理された蛍光像を提供するように基準値により蛍光像を処理する

ことを含んだ蛍光画像化用方法

【請求項 2】 組織から戻った光から紫外線を除去するためにフィルターを

有する画像センサーを準備することを更に含む請求項 1 の方法。

【請求項 3】 画像センサーが、可視領域におけるセンサーの診断感度の半

分より少ない紫外線領域における診断感度を有する請求項 1 の方法。

【請求項 4】 基準値が蛍光像における陰影について強度を補正する請求項

1 の方法。

【請求項 5】 蛍光像が増感されない請求項 1 の方法。

【請求項 6】 第 1 の光源が広帯域光源である請求項 1 の方法。

【請求項 7】 第 2 の光源が 350 nm から 420 nm の範囲の波長を発生

する請求項 1 の方法。

【請求項 8】 画像化すべき組織表面における陰影を補償することを更に含

む請求項 1 の方法。

【請求項 9】 第 1 及び第 2 の光源が同じ光ガイドに光学的に結合される請

求項 1 の方法。

【請求項 10】 各光源を光ファイバーに結合するシャッターを準備するこ

とを更に含む請求項 1 の方法。

【請求項 11】 組織表面における形成異常を画像化することを更に含む請

求項 1 の方法。

【請求項 12】 内視鏡、

内視鏡を通して伸びている光ガイドに結合している光源、及び

内視鏡の末端にあって、組織の蛍光像と反射像とを検出する画像化用センサー

を備えた蛍光画像化システム。

【請求項13】 光源が第1の広帯域光源と第2の狭い帯域の光源とを備える請求項12の画像化用システム。

【請求項14】 狭い帯域の光源が350nmから420nmの範囲の波長を有する光を出す請求項13の画像化用システム。

【請求項15】 光源に光学的に結合された光ファイバー装置を更に備える請求項12の画像化用システム。

【請求項16】 反射像と蛍光像とを処理して補償された蛍光像を作成するプロセッサを更に備える請求項12の画像化用システム。

【請求項17】 光源と内視鏡を通して伸びている光ファイバーとの間の光の経路に沿って位置決めされたシャッターを更に備える請求項12の画像化用システム。

【請求項18】 画像センサーが、可視スペクトル領域における診断感度と比較してより低い紫外線スペクトル領域における診断感度を有する請求項12の画像化用システム。

【請求項19】 画像センサーが400nm以下の画像センサーの診断感度を下げるフィルターを備える請求項12の画像化用システム。

【請求項20】 紫外線スペクトル領域におけるセンサーの診断感度が可視領域における診断感度の半分以下である請求項18の画像化用システム。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【関連出願】

本願は、全文が参考文献としてここに組み入れられた1998年1月26日付け、米国暫定出願60/072455号の利益を請求する。

【0002】

【背景】

以下は、中空器官におけるガン又は前ガン組織のマッピングのためのレーザー誘起蛍光の画像化用内視鏡の開発に関する。結腸ポリープについての最初の臨床的研究においては、可視蛍光(400-700nm)を励起するために370nmの紫外線(UV)光が使用され、そのスペクトルの特徴により正常な組織と異常な組織とを識別できた。従来の内視鏡による画像化は、2ポート型の標準(白色光)結腸鏡の生検用ポートの一方に取り付けられた光学モジュールを使用して達成された。光学モジュールは、組織にUV光を送るための石英の光ファイバーとこれに組み合わせられた光学系、及び得られた蛍光層を内視鏡の手元側に送るためのコヒーレントな石英の光ファイバーのバンドルを使用し、フィルターが反射UV光の大きな背景を除去し、高利得CID検出器のアレイにより蛍光像が捕捉される。

【0003】

結腸腫瘍の内視鏡的に収集された自己蛍光像を、結腸直腸ガン(CRC)に至る前ガンの検出用のスクリーニング装置として使用することができる。正常な粘膜と線腫とを識別するために蛍光が使用されてきた。特に、数種の異なった励起波長を使用してプローブと接触する1点におけるスペクトルが測定された。

【0004】

蛍光スペクトルは、数種の励起波長により光ファイバープローブを通して得られた。生体外研究で広範囲の励起波長にわたる調査が実施され、そして正常な粘膜と線腫との間の識別には370nmが最適であることが結論付けられた。形成異常のモデルとして線腫性ポリープを使用した研究室研究及び生体内研究は、この波長においては、正常な結腸粘膜と比較して、形成異常は460nmにおいて

は小さなピーク強度を有し、そして680nmにおいて増加した蛍光を持ち得ることを示した。更に、これらのスペクトルの相違に対する形態学的基準が蛍光顕微鏡により調査された。ポリープにおける蛍光強度の低下は、ポリープの高くなった構造、増加した脈管構造、及び陰窩細胞における減少したコラーゲンが原因である。赤色強調が陰窩細胞の増加した蛍光より生じ、これは高レベルのポルフィリンのため生ずることもある。

【0005】

【発明の概要】

本発明は、画像化用内視鏡に関し、特に白色光像を収集するために末端に取り付けられた電子結合素子(CCD)チップ、又は固体画像化装置を使用する2本通路の電子式内視鏡を使用する蛍光画像化用内視鏡に関する。本発明の特別な意味は、このチップが、光学モジュール及び増感CCDカメラを使用して得られるものより非常に大きな信号サイズで内視鏡のビデオモニター上に表示されている蛍光像を収集できることである。この構成は、結腸の形成異常の蛍光像を集めるために使用された。2個の小さいFAPポリープのビデオ像が標準の白色光像及び未処理の蛍光像から得られる。

【0006】

利得の増強のないCCD検出機は、散反射式の白色光像より強度の大きさが6桁小さい弱い蛍光信号を検出する。更に、驚くことに反射した370nmの励起光がCCDを完全に満たし、蛍光信号に意味不明にする。これは、400nm以下の波長ではCCDのスペクトル応答が急速にゼロに落ちることによる。そこで、CCDはそれ自体が長波長通過フィルターとして作用する。紫外線領域において検出された強度を可視領域において検出された強度に関して少なくとも半分に下げることにより別の画像化用装置を使うことができる。

【0007】

この特別な実施例においては、CCDは 270×328 画素の解像度及び直径2.5mmの対物レンズを持つ。像はRGBフォーマットで33msで収集される。この特別な実施例の利点は、研究室では、蛍光像が20mmの臨床的作業距離(内視鏡と組織表面との間の距離)で約34dbの信号対雑音比(SNR)を

示すことであり、これはUVモジュール/CID検出器を使って得られる同じ距離における約18のSNRより優れている。CCDの使用が光学モジュールの必要を無くし、システムの設計を非常に単純化する。更に、これは、生検用通路においてUVモジュールの回転する傾向と組み合った問題も避ける。白色光像と蛍光像について同じ検出器と光学系とを使うことにより、これら2個の像の完全な一致を得ることができる。CCDの白色光像と光学系モジュールの蛍光像との間の視差は大きい問題であった。この特別な実施例のCCDは、UVモジュールの10000本のファイバーと比較して88560個の画素を有し、より大きな総合の解像度を得ている。ペンタックス結腸鏡の対物レンズは、UVモジュールより良好な撮像特性を持つ。この実施例のレンズのライン拡張関数についての特性幅は、UVモジュールの400mmと比較して200mmである。スペクトル内視鏡の総合強度は1個のUV照射ファイバーのため大きくは増加しない。

【0008】

使用される診断方法は正常な粘膜と腫瘍との間の総合的な蛍光強度の差に基づく。そこで、ある用途においては、400から700nmの間の全帯域にわたる蛍光放射を集めることが好ましい。しかし、正確な測定は、460、600及び680nmのような複数の特定波長において蛍光をサンプリングすることにより診断情報が得られるな1点接触式の装置を使うことができる。多くの用途に対して、蛍光励起光の好ましい範囲は350から420nmの間である。電子式CCD内視鏡による内視鏡的な画像化の研究は、カラー情報を提供する能力を有するカラーCCDの使用を含むことができる。

【0009】

【詳細な説明】

内視鏡の所与の画素により収集された信号光子の数 N ，を組織表面の分離距離 d と半径方向距離 ρ の関数として記述する式、及び対応するSNRは以下の通りである。

【0010】

【数1】

$$N_s(p) = \frac{\eta_s \lambda_{em} g^2 T_f T_i T_o f_p r_L^2 \epsilon_i(\lambda_{em}, \Delta\lambda) \tan \theta_m^2 P_o(\lambda_{ex}) \Delta t}{hc \quad 8(1 - \cos \theta_m) N_f d^2 \left(1 + \left(\frac{p}{d} \right)^2 \right)^{3.5}} \quad (1)$$

$$SNR = \frac{N_s}{\sqrt{N_s + \left(\frac{\sigma_s}{G} \right)^2}} \quad (2)$$

【0011】

形状及び幾つかの記号が図1において定義される。放射波長は λ 、画素アレイ寸法は $g \times g$ 、光ファイバーの伝達効率 T 、濾波された放射波長の帯域幅は $\Delta\lambda$ 、この波長領域における伝達エネルギーのフラクシオンは T 、長波長通過フィルター、レンズ及びアイピースを含んだシステム光学系の収集効率は T 、入射光のエネルギーは P 、 $(\lambda_{ex}) \Delta t$ であり、 h はプランクの定数であり、 c は光の速度、 f はファイバーコアのパッキングフラクシオン (packing fraction) であり、 ϵ_i は組織の量子効率 (quantum efficiency) であり、そして N は解像要素の総数である。信号対雑音比 (SNR) は電子的ノイズ σ と利得 G との関数である。

【0012】

結腸直腸ガンは大きな国家的保険医療問題を構成する。米国における結腸及び直腸のガンの出現率と致死率とは肺ガンに対するものに劣るだけである。これは、結腸ガンの広がり管理するためには、現在のスクリーニング方法が不適であること、及び長い期間における検出の進歩がほとんどなかったことを示す。診断されたすべての患者についての5年後の生存率は35から49%の間である。結腸直腸ガンは、大きな余裕のある外科的切除がその成長を防ぐ唯一の信頼し得る方法であるため、放射線療法及び化学療法に対して比較的冷淡である。これらの腫瘍は隣接組織内への直接伸長により、及びリンパ管と血管とを経る転移により拡大する。転移拡大の最も普通の場所は、順番に局部的リンパ節、肝臓、肺臓、及び骨である。

【0013】

この疾病の病態生理学は、陰窩細胞における形成異常変化として直腸粘膜の上

皮膚において始まる。この組織は結腸鏡でアクセスでき、前悪性腫瘍病変が早期段階で見つかれば、これを生検により除去することができる。結腸及び直腸の大部分のガン腫瘍は線腫性ポリープと呼ばれる可視の前駆病変より生ずると信じられる。これらの良性集団は上皮細胞の単クローン性拡張より始まり、形成異常として公知の状態、核と細胞質の大きさと形状における不規則性を発展させる。これらの病変はその盛り上がりのため結腸鏡で検出できる。医学的に認められた線腫ガンの続発は、結腸直腸ガンが悪性転移を受けた線腫組織から発生することを示唆し、これは交互蓄積を作る多段階過程で生ずると信じられる。CRCの進行中の前駆状態の存在がガンへの更なる進行を防ぐためのこれら病変の早期発見と除去についての機会を提供する。

【0014】

結腸鏡の広く行われているスクリーニング方法は、生検用の線腫組織を探すための結腸粘膜における大きい構造的変化の観察にある。しかし、この手順は、平らな線腫組織に対しては比較的鈍感である。例えば、潰瘍性大腸炎（UC）として診断された患者は、組織のポリープ状部分からガンが進行する大きな危険がある。更に、最近の研究は、線腫ガンが小さい表皮線腫から生ずることが結論付けている。この危険性のため、結腸全体を通じての多数の生検を伴う結腸鏡検査による頻繁なスクリーニングを行わねばならない。しかし、試料採取の誤りと患者の誤診の可能性が、これを極めて不満足な監視の形にさせる。また、組織生検の検査は時間と費用がかかる。更に、診断の検証に観察者自身及び観察者間でのかなりの変動がある。形成異常が陽性として診断された患者が更なるスクリーニングのため、及び結腸の外科的切除の可能性のために病院に戻らねばならないことがしばしばある。そこで、組織の解釈を有する内視鏡監視の現在の状態は不完全な科学であり、そしてより大きな診断感度及び特に観察者自身及び観察者間の変動の少ない改良された方法が要求される。

【0015】

蛍光内視鏡画像化は白色光内視鏡による現在のスクリーニングの限界を克服できる特徴を提供する。この方法は、生物化学的構成及び組織表面下の微細構造に対して診断感度がよい。更に、内視鏡と組み合わせることにより、蛍光像は広い

面積を走査でき、かつサブミリメートルの尺度で組織構造を決定できる。蛍光についての十分な情報があれば、腫瘍領域の存在と位置とをリアルタイムで決定するためにコンピューターを使うことができる。自己蛍光は、正常な人体組織と異常増殖した人体組織とを識別する能力を示した。第1の研究は、種々の形式の組織からの腫瘍を体外で検査するために単一点の蛍光スペクトルを使用できることを示した。後に、膀胱、脳、結腸、頸部、食道、肺臓、口腔粘膜、及び皮膚における腫瘍を検出するために生体研究が行われた。更に、ヘマトポルフィリン誘導体 (HpD) のような外因性作用薬の使用による正常組織と病患組織との識別に蛍光が使用されている。

【0016】

直腸から盲腸までの全長は典型的に1.5mである。組織学的には、粘膜は、内腔と接触している層であり、約400 μ mの厚さを持つ。上皮は最も表面の層であり吸収性の円柱細胞と中間のムチンを作る杯状細胞とよりなり、水分を再吸収しかつ潤滑するように機能する。これらの細胞は、連続的に交替され、陰窩の基底に幹細胞を急速に分割することにより置換され、ここで腫瘍の第1段階を観察することができる。周囲の固有層は毛細血管とリンパ毛管とを含み、これが粘膜の分泌、吸収及びその他の高度に活動的な機能を支える。これは、ゆるく連結された組織、特にコラーゲン、並びに多数の炎症細胞からなり、腸壁を微生物の侵入から保護する。

【0017】

筋肉粘膜は数層の平滑な筋肉繊維より構成され、これは線状の陰窩から分泌物を排出するように収縮し、詰まりを防ぎ、更に上皮と内腔の内容物との間の接触を維持することにより吸収を助ける。粘膜下部組織は大きい血管、リンパ管及び神経を含み、そして密なコラーゲン連結組織で囲まれ、これが筋肉固有層への粘膜の取付けを保つ。筋肉の特性は内部の円柱状筋肉層及び外側の長手方向の筋肉層を含み、これらは糞の流れを良くするために結腸の不随意的蠕動性収縮を伴う。外側漿膜層は、大血管及び神経を含んだ連結組織からなる。

【0018】

線腫性ポリープは粘膜の持ち上がった突起であり、これは、不規則な大きさと

形状の核を有する未熟の貧弱に特異化した上皮細胞である。これらの病変は良性ではあるが結腸直腸ガンに転移する可能性がある。形態学的形式は、管状、絨毛状、及び管状絨毛状の線腫を含む。すべての形式が盛り上がるが、各形式は有茎と呼ばれ茎を持つことができ、又は無茎として知られる半球となることのできる。ポリープの悪性の可能性は絨毛形式で最大であり、管状で最小である。また、ガン進行の可能性はポリープの大きさとともに増加する。直径が1 cm以下のポリープでは侵襲性腫瘍の発見の機会は約1%，1から2 cmの間のポリープでは10%，そして2 cm以上の大きいポリープでは45%である。これらのポリープと組み合わせられたサブ細胞変化は、潰瘍性大腸炎において見いだされる形成異常と組織学的に同様であることが多い。

【0019】

分子生物学の研究結果は、線腫のガンへの悪性転移に含まれる段階が幾つかの腫瘍抑制遺伝子の配列の欠損と組み合わせられた腫瘍遺伝子の相互活性化を含むことを示唆する。また、ある種の遺伝子は、悪性腫瘍の発生より前の突然変異を直すことが不可能であることが見いだされた。幾つかの特別な遺伝子の交替が腫瘍遺伝子の処理中に確定された。結腸直腸ガンの50%のras腫瘍遺伝子において活性的な突然変異が見いだされた。更に、腫瘍抑制遺伝子能力の損失を含んだ対立遺伝子の欠失が、染色体の部分5、17及び18の部分で確認された。

【0020】

結腸に100以上の腫瘍ポリープを持った患者は家族性線腫ポリープ症（FAP）と診断される。これらの人々は、成人期にその結腸に多くのポリープを発生させる遺伝子素因を持つ。大多数の患者は500個から2500個の間のポリープを持ち、標準では約100個のポリープを持つ。FAPは稀な疾患であり、西洋世界ではCRCの発生率の約1%に過ぎない。形成異常の病巣は、通常、悪性となり、FAP患者は若年においてその結腸を除去しなければならない。この状態での結腸ガンの発現の可能性は10歳で10%、20歳で50%、そして30歳で100%である。組織学的に、ポリープの大部分は悪性転移の可能性の大きい管状の線腫であり、そしてFAPポリープと組み合った形成異常は散発性ポリープにおいて見いだされるものと同様である。遺伝子欠損の多い常染色体はこの

疾患の進行に対して応答する可能性がある。

【0021】

家族性素因と組み合わせられた第2形式のCRCは、先天性非ポリープ症結腸直腸ガン（HNPPC）である。HNPPCは、CRCを有する2種の年代の少なくとも3名の親戚、及び50歳以下で診断された少なくとも1名の親戚がいる患者として定義される。この形式はFAPよりも普通であり、西洋世界におけるCRCの発生率の13%までと計算される。HNPPC患者は多くの線腫性ポリープを持たず、これを散発性の事例において識別することは極めて困難である。疾患と染色体2の無名のマイクロサテライトマーカー（microsatellite marker）との間の遺伝子リンケージが見いだされた。

【0022】

潰瘍性大腸炎において、粘膜は細胞学的変化を受け、ポリープ形成の存在なしに形成異常が形成される。これらの変化は、慢性の炎症の繰返し発現と結腸上皮の回復との組合せと信じられ、そして小さい縁の部分の有する平坦な潰瘍性腫瘍が普通である。8年間にわたるUCを有する患者は、無作為の生検を伴った周期的な結腸鏡検査の受診が推奨される。このスクリーニング方法は粘膜の総表面の0.1%以下しか試料採取されないため効果的でない。しかし、CRCの新しい発生率の1%だけがUC事例から生ずることに注意することが重要である。

【0023】

UCは、未知原因の結腸直腸粘膜の炎症性障害である。UCの患者は形成異常又はガンの進行に対する大きな危険状態にある。この大きな危険の認識は、症状の最初の表示後、7-10年で始める結腸鏡監視戦略において得られた。結腸監視戦略は結腸粘膜の直接顕微鏡画像化と形成異常の顕微鏡的査定のための粘膜生検へのアクセスとを含む。形成異常の病理学的分類は1983年に標準化されたが、形成異常の解釈に関して難点と矛盾とが残っている。

【0024】

形成異常は典型的な病巣である。結腸鏡監視中の12-20回の粘膜生検の採取の実行にもかかわらず、結腸面積の1%以下しか試料採取が行われず、このため、形成異常の小さな病巣を見落とす可能性が大きい。このため、事前又は同時

に何らの形成異常も発生することなく患者のガンが発育することがあり得る。病気の最初の10年後におけるすべての患者の予防的な結腸切除の実施は、UCにおけるガン問題に対する理解し得る解であるが、最小又は中等の病状の患者はこの劇的な方法を取ることを好まないことが理解できる。組織学的な解釈による結腸鏡監視は不完全な科学に留まり、より大きな診断感度と診断的特性とを有する改良された方法が要求される。

【0025】

更に諸研究は平らな形成異常が線腫ガンの連鎖を経て発生しない散発性結腸ガンとなる得ることを示唆する。平坦な非ポリープ状粘膜において、判然としない赤色と変色とを有する小さい斑状の病巣として表面的に増殖する線腫の形態学的特徴が内視鏡で観察された。包括的研究において、33個のかかる病巣が、赤みのある表面と中央の凹所とを有し僅かに高くなったとして記述された。ガン又は重度のアトピーの病巣は直径が4mmまでのものが病巣の25%において、5から8mmの間が病巣の40%において、そして9から10mmの間の直径のものが病巣の80%において見いだされた。

【0026】

CRC用の初期スクリーニングを実行する何種類かの方法があるが、各はその有効性の点で限定される。スクリーニングの目標は、無症候の個人の局所的な上皮質量を検知することである。

【0027】

S状結腸鏡検査は、固い又は柔軟な画像化装置による患者の直腸及びS状結腸の臨床医による観察が含まれる。この形式のスクリーニングは結腸末端部25cm内で発生したCRCの60%の発見を基本とする。この長さは固いS状結腸鏡により達成でき、また柔軟なものでは60cmまで達することができる。しかし、近年の統計は、この装置の到達距離より先に多くの個数の腫瘍が見いだされることを示している。この方法の利点は、患者が麻酔を受けることなく、または事前準備を受けることなくこれを実行し得ることである。この病気についてのスクリーニングの最も広範な方法は結腸鏡検査であり、この場合、患者はまず事前準備を受けそして鎮静剤を投与される。結腸鏡は、結腸の全長にわたって挿入され

、そして白色光の下でポリープ又はその他の異常質量について粘膜表面が観察される。この方法は、高くなった病巣の確認のためには適しているが、平らな形成異常の領域は検出されないであろう。

【0028】

組織の蛍光は、所与の励起波長 λ_{ex} のレーザー光を吸収して生物分子の電子が高エネルギー状態に入る過程で発生する。励起された状態は不安定であり、電子は接地状態に戻るであろう。このエネルギーの大部分は分子の衝突により熱として失われるが、励起された電子のごく僅かな部分が内部転換を受け、より長い放射波長 λ_{em} で自発放射する。蛍光により解放された分子の僅かな部分は組織の量子効率と呼ばれ ϵ で示される。蛍光の強度は励起状態における初期個体数と組織の量子効率との積に依存する。

【0029】

スペクトル線の形状は蛍光放射及び組織の組成に特有な生物分子による吸収により決定される。一重線状態の電子レベルは振動状態と回転状態とに分割され、大きな分子は小さい間隔よりなり、そして分子の相互作用のため重なることができる。電子は、接地状態の振動・回転レベルにいずれかに崩壊し、そこで、生物分子の蛍光スペクトルは典型的に広い。スペクトルにおける構造のこの欠落が、蛍光から取り得る情報量を限定する。機構を作る組織成分は蛍光体として知られ、内因的な発色団は芳香族アミノ酸、NADH、FAD、及びポルフィリンを含む。蛍光の放射には局所的な環境が大きな影響を有し、蛍光は停止し又は波長が変化する。組織画像化用の自己蛍光の使用に関する更なる詳細を、米国特許4193142号、5421337号、5452723号、5280788号及び5345941号に見いだすことができる。これら特許の全文が参考文献としてここに組み込まれている。

【0030】

結腸における蛍光の使用の評価において取られる第1段階は、サブミリメートル尺度の1点測定により、実験室において、正常な結腸粘膜と線腫性ポリープとの間の差異を判定することである。例えば、4個の正常な結腸と11個の線腫性ポリープの蛍光応射がスペクトル蛍光計で記録された。使用された励起波長は1

0 nm段階DE 250から500 nmの間の範囲であり、結果は励起放射マトリック (EEM) と呼ばれるアレイに筒状にされた。正常結腸からの平均EEMと線腫性ポリープのものとの比率が取られ、330、370及び430 nmにおける励起が最多量の診断情報を含んだ蛍光スペクトルを作ることが見いだされた。

【0031】

研究室の研究におけるこれらの結果に基づいて、正常、線腫、及び増殖した結腸組織の370 nmによる識別をする蛍光の能力の評価が臨床試験によりに導かれた。この研究において、パルス化された窒素圧送式色素レーザーが、1個の励起用ファイバーと6個の収集用ファイバーとを有する光ファイバースプローブを通して370 nmの励起光を送った。このプローブは、結腸鏡の生検用通路を通して挿入され、結腸鏡検査中、検査粘膜に接触して置かれる。6個の個別の200 μ mの収集ファイバーよりなるプローブ、励起用の1個のファイバーと共にバンドルに配列された。この装置により、蛍光放射が、約1 mm²の組織の窓から検知された。蛍光スペクトルは、OMAに結合されたスペクトログラフにより検知された。スペクトルは、460 nmにおける差を示し、正常な粘膜は線腫より約6倍大きい蛍光強度を作った。この差は、実験室研究で見いだされたもののほとんど2倍である。650 nm以上では、線腫の平均値は正常のものより僅かに大であった。

【0032】

20名の患者から、460 nm及び680 nmにおける蛍光の強度がスカッタープロット (scatter plot) で置かれ、そして組織学と比較しての誤分類の数を最小にするために直線が引かれた。この判定線が、31個の線腫の31個、4個の増殖性ポリープの3個、及び32個の正常結腸組織標本の31個を正確に分類した。線腫の診断技術の診断感度、診断的特性及び正の予測値は、それぞれ100%、97%、及び94%であった。少数の増殖性ポリープしか検査されなかったので、蛍光を使用して線腫を増殖から識別できるか否かは不明であった。蛍光における観察された差は形成異常の変化によるものでなくポリープと正常な粘膜との間の構造的な差から生じたと思われる。

【0033】

次の段階は蛍光の性能の予想評価方法を提供するために、この研究からのデータを使うことであった。データは2個の等しい組に無作為に分割され、第1の組は460nmにおける蛍光の強度、及び680nmと600nmとにおける強度間の比率に基づいて組織の形式を識別するアルゴリズムを案出するために使用された。各点からの組織の生検が線腫、増殖又は正常のように組織学的に分類された。予測決定基準から、線腫の診断技術の診断感度、診断的特性及び正の予測値は、それぞれ90%、95%、及び90%であった。

【0034】

研究室において、正常な粘膜、線腫性ポリープ、及び増殖性ポリープを識別するために337nmで励起された蛍光を使用する更なる計画が行われた。86個の正常な結腸の場所、35個の増殖性ポリープ、及び49個の線腫線ポリープ蛍光のスペクトルが、1個の光ファイバーで測定された。蛍光放射は390nm及び460nmにおいてピークを示し、これは粘膜下部組織におけるコラーゲンに起因する。このピーク強度は、正常な粘膜、増殖性ポリープ、及び線腫についてそれぞれ低下した。正常粘膜のピーク強度は線腫のものの2倍より僅かに小さいことが見いだされた。MVLR解析を使用した、線腫性ポリープと増殖性ポリープとを識別するための蛍光の診断感度、診断的特性、及び正の予測値は、それぞれ86%、77%、及び86%であった。この研究により、蛍光の差はポリープにおける蛍光の存在よりポリープの形態によることが結論付けられた。

【0035】

結腸における蛍光を研究するために別の励起波長が使用された。研究室において、35個の正常な粘膜及び35個の線腫性ポリープからの蛍光スペクトルを測定するために、OMAにより1個の光ファイバーから325nmの励起光を送るために連続波He-Cdレーザーが使用された。正常粘膜からのピーク強度は375nmにおいて生じ、また線腫のものは450nmにおいて出現した。多変量線形回帰(MVLR)解析が、診断基準を決定するように各データ点に対するスコアの組を確立した。追加の34個の正常部位、16個の線腫部位、及び16個の増殖部位からの蛍光スペクトルが取られ、確立された決定基準を使用して予測的に解析された。この研究の診断感度、診断的特性及び正の予測値はそれぞれ1

00%、100%、及び94%であることが見いだされた。更に、16個の増殖性ポリープの15個が正常として分類されたが、増殖性ポリープは上皮層の厚化より形成されたものであり、正確な診断である。

【0036】

結腸の蛍光が、更に410nmの励起光により研究された。450-800nmの放射が、45名の患者から結腸鏡検査中に取り出された83個の生検標本からスペクトル蛍光計により集められた。460-530nmの放射帯域の強度は正常からガンに線腫性の粘膜に低下した。460nmにおけるピーク強度は正常な粘膜については線腫に対するより約2.5倍高かった。9個の変数を使用してスペクトルについて段階的な離散した解析が行われた。組織学と比較して結果が、それぞれ88.2%及び95.2%の診断感度及び診断的特性を有する正常粘膜と線腫との間で方法の確立されたことを示す。約470、485、及び404nmに中心のある3個の帯域の重畳から蛍光放射が得られた。

【0037】

従って、線腫性粘膜と正常な粘膜との間のを識別するために組織の自己蛍光の使用を評価するため、最近の5ないし10年に行われた外延的研究がある。研究室における調査により、330、370、及び430nmが励起に最適であることが結論付けられた。研究室の予備的結果は、1点式の蛍光検出法が、それぞれ90%、95%、及び90%の大きさの診断感度、診断的特性及び正の予測値を持つことを示す。この場合も、データは、内因性の蛍光体がコラーゲン、NADH、及びボルフィリンを含み得ることを示す。ヘモグロビンは吸収性の色素細胞である。この技術を臨床的な設定に適したものとするために、大面積の蛍光検出と処理とをリアルタイムで行い、そして通常の白色光内視鏡に適したものにす必要がある。これらの諸要求はスペクトル画像化用装置の開発を要求する。

【0038】

蛍光を放射する正常な結腸粘膜及び線腫性ポリープの形態学構造を考えるために、力のかかっていない動かない部分の蛍光のマイクロ写真が研究された。アルゴンイオンレーザーからの351及び364nmの線が蛍光の励起用に使われ、そして放射が、420、475、515、570、及び610nmの遮断波長を

有する一連のバリアーフィルターにより集められた。蛍光の強度は1人の観察者により1+から4+まで、半定量的に分類された。正常粘膜においては、粘膜固有層のコラーゲンからの420ないし700のスペクトル帯域の蛍光が3+に格付けされ、粘膜下部組織のものは同じ帯域幅で4+に格付けされた。上皮においては、吸収性細胞から見られる弱い蛍光が有り、杯状細胞からは無い。H&E着色部は、正常粘膜の組織構成を確定した。連続非着色部の蛍光像は蛍光の構造を示した。蛍光構造を示している連続非着色部の蛍光像について幾つかの差が観察された。

【0039】

線腫性粘膜の蛍光マイクロ写真について幾つかの差が観察された。第1に、粘膜固有層にあるコラーゲンは少なく、上皮より弱い強度の蛍光が生ずる。また、陰窩細胞の細胞質に見られる蛍光の強度は、正常陰窩で見られる+/-と比較して、2+に記録された。最後に、線腫には多数の蛍光細粒がある。H&E着色部の像は、線腫性ポリープからの陰窩細胞を含む。直列の非着色部からの蛍光は観察可能な蛍光レベルを示し、粘膜固有層の好酸性因子の数は正常な粘膜におけるよりかなり多い。線腫性ポリープの粘膜下部組織は4+に格付けされ、これは正常のものと同じである。

【0040】

臨床的に観察された蛍光をその顕微鏡的起源により記述するための手順が開発された。この方法は、各微細構造の固有の蛍光とその密度を、組織の深さ及び入射と戻りの経路の光学的濁度の関数として組み合わせた。次いで、臨床的な蛍光スペクトルからの各蛍光の集中を抽出できる。この手順から、線腫からの蛍光強度と比較してより大きい正常粘膜からの蛍光強度を観察するための要因は次の通りである。(1) 粘膜下部組織の蛍光はその上の粘膜のものより約10倍明るい。(2) 粘膜は、これは十分に厚くてその下の粘膜下部組織が貢献できない場合は、到来の励起光と戻ってくる蛍光の両者を粘膜が減衰させ、また、正常粘膜におけるように粘膜が薄い場合は、減衰は少なくなりより明るい組織蛍光が得られる。(3) 更に、線腫の蛍光強度は正常な結腸粘膜のものより小さい。これは恐らくは、線腫性の陰窩幅粘膜固有層における優勢な蛍光体であるコラーゲンを押

しのけるためである。(4)線腫は、ヘモグロビンの豊富な微小血管構造のため、370nmの励起光と戻りの蛍光の両者に対する大きな減衰を示す。

【0041】

4個の異なった波長で同時に放射された蛍光を集める多重スペクトル画像化システムが開発されている。この装置において、光ファイバー内視鏡の出力は4個の空間的に分離された干渉フィルターを通過する。4個の像が、複数ミラーシステムの調整可能な部分により増感CCDアレイのコードランド上に配列される。図2に見られるCCD又はその他の画像化装置40は、30000個以上の画素を持つことができる。4個の波長は正常組織と病変組織との間の蛍光スペクトルのコントラストを最適にするように選定された。無次元のコントラスト関数を作るために、ヒトの死体の大動脈からの蛍光が337nmで励起され、400、420、450、及び480nmからの放射の比が作られた。この関数は、通常の動脈より4倍大きいアテローム性動脈硬化症のプラークについて示され、そして結果は偽カラーのオーバーレイを使って表示された。この設備は、蛍光スペクトルから、ネズミの腫瘍とこれを囲む筋肉との間の識別もできる。このシステムに関する更に詳細は、Wang, T. D. 他、*Real-time In Vivo Endoscopic Imaging of Fluorescence from Human Colonic Adenomas, Proceedings of SPIE 1998, 3259*に述べられ、その全文が参考文献としてここに組み入れられる。

【0042】

このデザインの解像度は画像化用バンドルのファイバーにより限定される。4個の蛍光放射波長の使用が、正常組織と病変組織との間の大きなコントラストを提供し、かつ病変検出過程の開発における大きな融通性を提供する。しかし、蛍光放射を並列に分割するため、信号は1/4に減少し、従ってSNRが低下する。更に、4個のスペクトル像を異なった角度で検出装置上で位置合わせをさせなければならず、これが像の記録のための作業を要求する。更に、複数像を使用する像の処理アルゴリズムは計算時間を増加させ、また蛍光が4個の帯域の独立情報を含むことは明瞭でない。最後に、蛍光像は内視鏡の手元側端部において検出

されるが、これは白色光像との整列のため及び装置の方向操作のため臨床での使用に困難がある。

【0043】

2個の放射帯域だけを集める、多重スペクトル画像化用システムの簡単な変更例が開発された。このデザインは、蛍光放射を2個のビームスプリッターで増感CCDカメラ上に分割する。ヘリウムカドミウムレーザーが光ファイバー式気管支鏡の照明用バンドルを経て442nmの励起光を送る。蛍光放射は2個の帯域で濾波され、その一方は480と520nmの間であり、もう一方は630nmより大きい波長である。2個のスペクトル像は整列され、更に正常組織と病変組織とを区別するために強度が1点ごとに比をとられ、そしてカラー像が形成された。この方法は、照明光の距離と方向の影響、並びに組織の反射特性の影響を無くす。白色光像を観察するために、カラーカメラが別に取り付けられる。このシステムは、53名の患者と41名の志願者について臨床試験がなされ、結果が通常の白色光の気管支鏡で328カ所について比較された。蛍光の強度は73%であり、これは線腫とガンの検出の際に白色光で見いだされた48%より相当大きかった。二つの方法は94%の同じ特異性を有することが見いだされた。

【0044】

白色光像及び蛍光像は、医療システムにおいて、2本通路の電子式結腸鏡（ペントックスEX-3800TL）により集められた。このモデルは、直径がそれぞれ3.8及び2.8mmの2個の生検用通路を持つ。内視鏡の外径は12.8mm、そして作業長は1.7mである。多要素対物レンズの視野は拡散半角が60°、焦点深さが5から100mmの間の範囲である。白色光照明は300Wの短アーククセノンランプで作られる。白色光画像化用及び蛍光画像化用の両方に同じ検出器を使うことにより完全な位置合わせを得ることができる。この特徴は診断用のオーバーレイを作るために理想的である。

【0045】

図示のプロープは、直径3mmのBK7ガラスマイクロレンズ（F#=-1）と結合されたNA=0.40の、コア直径が200μmの光ファイバーよりなる。図示のプロープは器具用通路に一方の中に差し込まれ、先端は結腸鏡の末端と

同一面におかれる。光の拡散角度を最大にするように、モードミキサーが励起用ファイバーをその手元側端部で掴む。プローブは、動かないようにロイルロック (leuro lock) により結腸鏡の手元側端部に取り付けられた。300mWの電力が組織に供給される。CCD検出器 (TI TC210) のスペクトル応答は400nmで遮断され、そして励起波長 $\lambda = 351$ 及び 364nm において無視でき、従って励起光からのスペクトル反射を阻止するために長波長通過フィルターの必要性を無くす。2個の器具用通路が光ファイバー照明プローブと生検用鉗子との同時使用を許す。図1は、画像化用バンドル20、生検用通路12、レンズ18、及び照明用ポート14を有する内視鏡10の図式的な図面である。装置の末端は組織からの距離dに置かれる。一つの問題は、かかるシステムと組み合わせられた1個のプローブが照明システムで作り出される陰影である。以下説明される本発明の重要な特徴は、組織16の表面上の陰影を補償する処理である。

【0046】

使用者は、1対のコンピューター制御シャッター (Uniblitz, VS14) を使っている照明に白色光を使用するとき、励起光を阻止するために足踏みスイッチを作動させ、又はこの逆の走査をする。各蛍光画像を獲得するための集積時間は33msである。図3に示されるように、臨床用蛍光画像化システム40は、ビデオプロセッサ48、コンピューター44、モニター46、マビグラフ (mavigraph) 50、VCR52、レーザ42及び結腸鏡54から構成される。

【0047】

電子式結腸鏡54は、末端においてCCD検出器により光子を検出する。本発明の重要な態様は、テキサツインスツルメントTC-210 CCD検知器のスペクトル応答が400nm以下に十分に急速に落ち、UV励起による拡散反射が観察されないことである。事実上、拡散反射及び蛍光よりも何桁も強度が大いスペクトル反射がないことが観察された。本システムの可能性を作る別の態様は、検出器が、増感装置の使用なしで結腸粘膜からの蛍光を検出するに十分な診断感度を有することである。検出器は末端に置かれるため、光の伝達効率検出器と組

織との間に置かれた多素子対物レンズによってのみ決定される。本発明のこの実施例の別の重要な特徴は、同じチップが白色法と蛍光の両者を検出し、このため疑似カラーの重畳の際に完全な位置の整合が生ずることである。更に、手順の実行の為に臨床医の能力を妨害しないように結腸鏡を改変する必要がないことである。

【0048】

このシステムの一つの限定事項は帯域幅選定とチップのスペクトル解像度である。TC210は単色検出器であり、可視スペクトルの全体にわたり蛍光を集める。光は角度 60° の大きさで集められるため、CCDの前面で帯域通過フィルターを使うことで十分である。しかし、赤、緑及び青の光に感度のある画素を含んだRGB検出器があり、これは蛍光像を3個のフレーム内に作ることができる。しかし、通過帯域は、画像化回路の集積回路製造者により決定される。ゲーティング機構を使うこともできる。これは励起源としてパルス化レーザーを使用するために望ましい。その他の励起源は、CWレーザー及び帯域の広い又は狭い光源を含むことが可能である。

【0049】

スイッチ76により作動される電子式画像化システムのブロック図が図5に示される。アルゴンイオンレーザー60が、シャッター62を経て石英の光ファイバー内にUV光を送る。この光ファイバーは、結腸鏡の一方の器具用チャンネル内に置かれたマイクロレンズに結合される。一方、白色光64はシャッター66を経てポート70の照明用ファイバーに送られる。1対のシャッター62、55がデジタル入力/出力(I/O)カード74によりコンピューター制御される。蛍光像及び白色光像の両者は末端においてCCD72により検出される。フレームグラバー78が蛍光像と白色光像を順次に2進化する。ホストマイクロコンピューターが画像処理アルゴリズムを実行して疑似カラーを重ねて表示する。VCRにより記録し得るフォーマット内にオーバーレイすることにより白色光像を変換するためにマブグラフが使用される。

【0050】

図6のプロットは電子式画像化システムで集められた14個のフレームの平均

からの蛍光の強度を示す。正常な結腸粘膜からの画素の列が示される。SNRの測定値及び予測値プロットされる。SNRは中央において約30であり、これは周辺近くで約10に落ちる。従って、全視野は、正常結腸粘膜と線腫との間の識別のために装置ノイズの限定された検出についての最小SNR要求値4を満足する。

【0051】

蛍光像強度のフレームごとの平均値からの変動を図7A及び7Bから見ることで、これは14個のフレームの平均値と比較したときの1個のフレームの画素列を横切る値の間の差を示す。図7Aのプロットは、図6に示された正常な標本に対するものであり、図7Bのプロットは、ガンの線腫を含んだ粘膜標本からのものである。平均値からの変動は、正常組織と線腫組織との間の蛍光強度の差と比べて小さい。従って、画素から画素への変動に基づく偽の陽性の発生は小さい。

【0052】

電子式画像化システムにより得られた蛍光像にストーキングアーティファクトが出現する。このアーティファクトは、CCDの列が電子的に読み出しているときUV励起光が阻止されないために発生する。これは、空間的に分離されたフィルターを有する回転車輪により白色光の照明下で行われる。このアーティファクトは、画像データの処理用のソフトウェアで除去できる。

【0053】

結腸粘膜上に安全に供給できるUV光のレベルを決めるために研究が行われた。白色光及び蛍光が順次集められた。30名の患者から14個の結腸線腫と6個の増殖性ポリープの蛍光像が集められた。最後に、並行して1点EEMスペクトルの蛍光像が集められた。これらの研究から、蛍光像の収集、処理、及び結腸の運動の表示のリアルタイムでの実行有効性が評価された。更に、アーティファクトの原因は評価された粘膜の酔うな結腸粘膜、便、及び事前処理にある。また、結腸の解剖は大きい入射角度で像を集めることを望ましくし、そしてこれらの限定のある移動平均アルゴリズムの有効性が決定された。最後に、蛍光像からの強度が1点光ファイバースコープからのものと比較された。

【0054】

使用された励起源は、Coherent Innova328である。このレーザーは定格がUVの場合1Wであり、208Vで60Aの電力と毎分11.36リットル（3ガロン）の水を必要とする。励起光は、長さ12.5及び16.5メートルのファイバーを有し結腸鏡の末端に励起光を送ることが要求される光ファイバー装置内に結合される。

【0055】

第1に、励起用ファイバーを結腸鏡内に組み込まなければならない。次に、白色光と蛍光との間を迅速に切り替えるための方法が使われた。最後に、蛍光の結果を白色光の像と迅速かつ正確に一致させる方法を実行しなければならない。

【0056】

結腸鏡検査の手順は、113.6cc（4オンス）の水と混合された85.2cc（3オンス）のフリートホスファソーダによる患者の下準備を含む。研究室において、結腸粘膜と接触した光ファイバープローブを使用し、370nmの励起で、下準備の混合物からの測定し得る蛍光はない。

【0057】

定例の結腸鏡検査中に、生体において、電子式内視鏡を使用し白色光反射と蛍光像が順次集められた。白色光像は、赤色での大動脈の血管パターン、及び青色での静脈のアウトラインを含むことができる。スペクトル反射のバッチを、像の下半部に見ることができる。正常な粘膜の蛍光は、一緒に広げられた大動脈パターンと共に低くされた蛍光強度として一様に現れる。この効果は、ヘモグロビンによる蛍光歩応射の吸収によるものである。静脈は蛍光像では現さず、励起光からのスペクトル反射はほとんどない。図4に示されるように、蛍光の照明野は白色光のものより僅かに小さい。

【0058】

線腫性ポリープの像の収集、処理及び評価の例が示される。直腸内に置かれた散発性ポリープから得られた白色光内視鏡像は、像の中央付近で上半部に置かれた直径が約5mmの可視の構成的特徴を有するポリープを示す。生の蛍光像においては、線腫は輝いた中央部分を囲んでいる低い強度の領域として出現する。

【0059】

この像は、それ自身の移動平均像との比率が取られ、パーセント率の像を作るために100倍される。形成異常を含む種々の可能性のある粘膜の領域を定める輪郭線を決定するために、60%、75%及び90%において得られた処理された蛍光像の閾値が使用される。次いで、この輪郭は偽カラーで満たされ、生検用の目標とするするために組織の区域をハイライトにする。偽カラー赤、緑、及び青は、白色光像上の、それぞれ可能性の大、中、及び小である区域を示す。ポリープは組織学の線腫であることが見いだされた。

【0060】

病変を示している重畳領域は線腫部位におかれた1個、及び粘膜のひだにより投影された陰影に相当する別の2個を含む。陰影は、蛍光像における強度の弱い領域として出現する。これらの効果は内視鏡を粘膜の表面に直角に向けることにより最小にされた。更に、陰影に起因する重畳領域は組織表面に対する内視鏡の角度の変化に大きさ及び形状が変化し、一方、線腫により作られたものは大きさが一定のままである。

【0061】

白色光像及び蛍光像は、定期的に結腸鏡検査を受けいている総計30名の患者から集められ、これらの像は14個の線腫性ポリープ及び5個の増殖性ポリープからの像が含まれる。各線腫及び付近の正常部位から1個の生検が取られた。蛍光像は移動平均アルゴリズムにより処理され、検出の感度が55%から90%の範囲の閾値の関数として決められた。診断感度の結果が図8にプロットされる。

【0062】

結腸粘膜の自己蛍光像が生体より内視鏡的に集められ、そして、これらは、線腫性ポリープの形で形成異常を確定し局所化するために使用することができる。蛍光像のSNRは典型的に30以上であった。線腫は蛍光アルゴリズムにより高診断感度で正確に測定された。図8に示されるように、像が直角の入射角で集められたときは、生体における検出の感度は研究室における検査のものに匹敵する。75%の閾値における結腸線腫の検出の感度は、研究室検査の場合の92%と比較して86%であった。診断感度を判定するためには、真の陰性と偽の陽性と

を認定する必要がある。しかし、真の陰性（偽の陽性）は、蛍光において正常（病変）であることが見いだされた正常な粘膜の領域に相当する。これらの結果は、追加の生検が穿孔の追加の危険を招くため得られなかった。更に、形成異常ではない増殖ポリープからの蛍光は、病変の領域において移動平均アルゴリズムからは得られなかった。

【0063】

像の大きさに比較においては、生体の像は $10 \times 10 \text{ cm}$ の大きさの粘膜領域を囲み、一方、研究室における調査では結腸粘膜の標本は僅かに $2 \times 2 \text{ cm}$ であった。かかる大きな観察野では、結腸は多くの粘膜のひだを含み、かつ組織のこれらの層のため励起光が後方におかれた正常な粘膜への到達を阻止し、従って陰影ができる。研究室の調査ではひだは無かった。処理された蛍光像での診断の誤りは、主にこれらの陰影が原因である。使用された蛍光方法は、正常な粘膜と形成異常粘膜との間の差に基づく。しかし、陰影は形成異常の無い診断感度の小さい領域として現れる。このアーティファクトは蛍光の励起のジオメトリーにより説明することができる。蛍光励起は、便宜上、生検用ポートに置かれた1個のファイバーにより提供される。この器具用通路の中心は、CCD検出器の中心から 8.3 mm 離れている。一方、白色光像は2個ファイバーにより照明され、これらの中心は検出器から僅か 3.8 mm に置かれる。従って、白色光像における陰影は、蛍光におけるものより明らかに小さい。

【0064】

蛍光技術は線腫の検出のために1個の蛍光放射帯域を使用した。この方法は、結腸鏡が病変に対して直角入射するように向けられかつ粘膜のひだの無いときの研究室においてはうまく機能する。しかし、蛍光の基本形の臨床での使用中は、内視鏡の視野は線腫の側に限定されることがしばしばある。結腸は筒状の構造であるため、当選のことではあるが結腸鏡を病変に対して直角に向けることがほとんど不可能な部位に線腫があることがある。その結果、病変の一方の側が正常な結腸粘膜により囲まれないことが有り得る。別の状況としては、正常な粘膜が、線腫よりも十分に高い蛍光強度を作るには離れ過ぎることがある。

【0065】

蛍光強度は生の像から測定される。線腫内部に3個の部位(表3の左、中、及び右で示される)において、正規化された強度値及び強度比が取られた。図9のプロットは線腫を通る蛍光強度プロファイルであって、それぞれ生の蛍光及びパーセント比の値を現しているプロファイルである。線腫の直径は約8 mmであった。蛍光の場合は、病変は横軸上の11 mm及び19 mmのマークの間に置かれ、これらは図9のx軸近くの縦線でマークが付けられている。線腫の大部分は病変の中央に1個の蛍光強度の最小を示した。正常画素と病変画素との平均値の比は、中央において 1.8 ± 0.5 、そして左及び右の中央点では、それぞれ 2.0 ± 0.6 及び 2.0 ± 0.7 であった。これらの部位における平均強度は 2.0 ± 0.6 であった。この手続きの結果により、生体蛍光像における正常な結腸粘膜と線腫の蛍光粘膜との間の差は研究室におけるものより非常に小さいことが示された。

【0066】

同様に、増殖性ポリープについて生の像から蛍光強度が測定された。ポリープ内部に3個の部位(表3の左、中、及び右で示される)において、正規化された強度値及び強度比が取られた。図10のプロットは増殖性ポリープを通る蛍光強度プロファイルであって、それぞれ生の蛍光及びパーセント比の値を現しているプロファイルである。増殖性ポリープの直径は約5 mmであった。蛍光の場合は、病変は横軸上の17 mm及び22 mmのマークの間に置かれ、これらは図10のx軸近くの縦線でラベルが付けられている。増殖性ポリープは病変を横切るほぼ一様な蛍光強度を示した。正常画素と病変画素との間の平均値の比は、中央において 1.1 ± 0.1 、そして左及び右の中央点では、それぞれ 1.2 ± 0.1 及び 1.1 ± 0.2 であった。これらの部位における平均強度比は 1.1 ± 0.2 であった。この平均比の値は正常な粘膜のものと大きな差は無いので、この強度方法で病変のない領域を確認できないのは驚くことでない。

【0067】

生体像においては、白色光像及び蛍光像の両者に動脈パターンが明瞭に表示された。生体像においては、恐らくは生きている結腸の血液供給が行われなかったため、血管は現れなかった。血液中のヘモグロ빈はよく知られた光の吸収体で

あり、蛍光強度の弱い線状のパターンを作る。従って、強度は、血管の生の蛍光像から測定される。表3に示されるように、血管による強度比は 1.3 ± 0.1 である。この値は線腫による平均よりかなり小さく、このため血管は重畳におけるアーティファクトの原因ではないであろう。更に、血管をその形を基として除去するために像処理方法を使うことができる。表3において、線腫、増殖性ポリープ、及び血管についての強度比が比較してまとめられる。

【0068】

内視鏡の像及び1点法スペクトルの両者は、組織の生化学についての価値ある情報を提供できる。各方法は独自の長所と短所とを持っている。内視鏡は、像を集めそしてサブミリメートルの解像度で空間的情報を提供する。正常粘膜と線腫との間の蛍光強度を比較することができる。相互にaミリメートルの小さい部分内の同じ像のフィールドで比較することができる。また、蛍光像は遠隔で集められ、従って組織への圧力は像のフィールドを通して一様である。しかし、蛍光で空間情報を取得することはより困難である。含まれる大面積のため、非常に大きな励起用電力を使わない限り、十分なSNRの維持に対しては各画素における蛍光エネルギーが弱くなる。

【0069】

これに反して、1点光ファイバー接触プローブは直径が僅かにほぼ1mmの区域から蛍光を集める。増感された多通路型光学アナライザー(OMA)により、広い帯域にわたるスペクトルを良好な空間解像度と高いSNRで測定することができる。しかし、正常粘膜と線腫との間の差を拾うためには粘膜上の複数の部位にプローブを置くことが必要である。典型的に、取られた正常な粘膜は線腫から数cm離れ、絶対強度の比較はその距離の間の生物学的な可変性により影響されることが有り得る。

【0070】

結腸の筋肉は定常的に収縮と膨張とをしているため、ポリープ上のプローブの接触の程度が生体測定中に変わる可能性がある。その結果、プローブの設置を難しくする動きが作られる。線腫は円くてかつ滑り易く、そして結腸壁の運動が、ポリープの表面との完全な接触を非常に困難にさせるであろう。更に、光ファイ

バーブロープの末端は平らでなく、 17° の斜面である。このため、斜めにされた側の向きが接触の度合いにも影響を与える。

【0071】

結腸鏡検査手続きの結果は、全EEMを収集するために要求される0.5秒でプローブをポリープ上に置くことが非常に難しいことを示した。線腫を囲んでいる正常な粘膜において、励起源を現している種々のカラーで漏れている光が観察された。この観察は、ポリープへの励起エネルギーの供給と蛍光放射の収集とが完全でなかったことを示す。粘膜の生理的な運動により、及び平らなプローブが滑り易く半球状の表面に置かれていることにより、プローブの接触が妨害された。正常な粘膜ではその表面が平らであるため、接触はスペクトル収集に対して問題がない。

【0072】

更に、正常な粘膜と線腫の強度間の比は、各部位に加えられる圧力の差のため影響を受ける可能性がある。生体では、実験は、線腫を含んだ結腸粘膜の切除された試料について行われた。結腸鏡の生検用通路を通過したプローブにより加えられる圧力の関数として、400から700nmの範囲のスペクトルにおける蛍光の強度が測定された。圧力は秤により測定された。図11に示されるように、蛍光強度は圧力と共に上昇し、強度比は、正常部位と線腫部位の両者に等しい圧力が加えられた場合は変化しない。しかし、このことはスペクトルの臨床的獲得の場合はないのが普通である。正常粘膜は比較的平らであり、数グラムの圧力による殆ど完全なプローブの接触により測定を行うことができる。一方、ポリープ上ではプローブが滑り離れるため、ポリープ上の圧力を正常部位と同じにすることはできない。正常部位における圧力は約5グラムと見積もられ、一方、線腫においてはゼロ近くであると見積もられる。このため、正常粘膜において加えられる圧力と線腫における圧力との差が、図11に示されるように、強度比の2から3への増加を生ずる。

【0073】

更に、結腸鏡検査手順で記録された像について、正常な粘膜はスペクトルの収集中にプローブが置かれた部位における陥凹を示した。この観察は、データの収

集中、数グラムの圧力が正常な粘膜にかけられたことの判断と一致する。これに反して、いかなる圧力もかけられなかったときはプローブがポリープから滑り落ちたことが分かる。これは表面の水分のため発生する。従って、線腫に加わる圧力は大きく低下した。

【0074】

画像化法及び1点法で測定したときの正常な粘膜と線腫との間の蛍光強度比を比較するために別の手順が生体で行われた。2個の線腫を含んだ結腸粘膜の切除標本の白色光像及び蛍光像が得られた。画像化法及び1点法の両方で、線腫の直近の7個の正常部位からの強度が測定された。結果は、各システムに対して平均値が100となるように正規化された強度を含む。この段階により、各点における直接比較が可能となり、強度が互いに約10%内にあることを示す。更に、正規化された強度は、画像化法では68から155の範囲、そして1点法では63から136の範囲である。従って、正常な粘膜で測定された強度は、両方法において試料採取された部位に依存し、2倍以上にわたり変化し得る。

【0075】

表4において、画像化法及び1点法での2個の線腫についての蛍光強度及び強度比が決定される。これらの値は線腫の中心と左と右において決定される。左の線腫については、平均強度比は、画像化では1.43、そして1点法では1.54であった。右の線腫については、平均強度比は、画像化法では1.52、そして1点法では1.72であった。これらの結果は、生体における画像化法と1点法との間の強度比の差が小さいことを示す。

【0076】

画像化システム及び1点法の異なった励起及び収集ジオメトリーを与える蛍光強度比を決定するためにモンテカルロシミュレーションから蛍光強度比が算出された。図12において、内視鏡100及び1点プローブ102についての収集ジオメトリーの線図が示される。内視鏡は直径2.5mmの対物レンズを有し、組織表面から距離20で空気中に置かれる。このジオメトリーは収集角度40°に相当する。プローブは、組織16と接触する石英のシールド106を備える。光ファイバーが、このシールド106により組織表面から2mmの距離に置かれ、

収集角度 12.7° に相当する $NA=0.22$ で光を集める。励起及び放射の波長についての結腸粘膜の光学的パラメーターが表2に示される。

【0077】

シミュレーションに使用される励起は拡散角度が 0° の無限に細いビームである。均一な太さの励起ビームによる組織上のある点における蛍光強度は、測定すべき点からの距離を段階的に増して動かされる無限に細い励起ビームの重畳により集められた蛍光から決定することができる。しかし、この結果は、視野にわたって蛍光強度を積分することと同等である。組織のLSFは数mm以内で急速に落ち、このため、このシミュレーションは、表5に特定された収集角度内で2mm領域にわたり積分する。シミュレーションの結果は、組織表面で集められた光と励起の光との間の強度比の項目で示される。表5において、正常な結腸粘膜と線腫との間の強度比は、内視鏡及びプローブについてそれぞれ3.0及び2.9である。内視鏡及びプローブについて強度比は同様であり、この結果は研究室の調査と一致する。内視鏡についての強度比は、プローブに対するものよりわずかに高く、これは内視鏡の収集角度がより小さい場合と一致する。高度に蛍光の粘膜組織からの光は、多分、より小さい収集角度の検出器に達することが多い。

【0078】

内視鏡画像化システムにより直角の入射角で視野にわたって収集された光子の数を限定するためのモデルが開発された。この結果は、白色光反射及び蛍光像の両者について妥当であり、かつ画像化用光ファイバーバンドル及び電子式画像化システムに両者に適用できる。中央の照明及び放射のプロフィルの空間分布は像の周囲に向かって落ちる。検出器のノイズ戦略と組み合わせられたとき、像のSNRもまた決定することができる。この解析は、距離及び光学的収集ジオメトリーが、周囲におけるSNRが中央におけるSNRよりも常に小さいプロフィルを作ること示した。このパラメーターは、組織の病変を確定するアルゴリズムの開発に必要である。また、収集された光の強度は、内視鏡の末端と組織との間の距離の二乗で減少することが見いだされた。更に、コヒーレントな画像化用バンドルによる光の収集は、光ファイバーの多くの孔により限定される。この解析ツールは蛍光画像化システムの光学的パラメーターの設計に、及び蛍光を励起するに

必要な光源の形式の確定に使用することができる。

【0079】

内視鏡画像化用モデルのために開発された方法は、2種の蛍光画像化システムを建設するに必要な励起源、光学系、及び検出器の決定に使用された。第1のデザインは、増感CIDカメラのある手元側端部において蛍光像を検出する光ファイバー式結腸鏡よりなる。400nm長波長通過フィルターが反射励起光の阻止に使用され、結腸鏡の外に置かれた石英の光ファイバーが像の励起に使用された。第2のデザインは臨床用の諸要求を受け入れるための第1のデザインの変更である。このシステムは、2個の器具用通路のある電子式結腸鏡を使用し、そして末端において蛍光像を検出する。反射励起光を避けるために、CCD検出器のスペクトル感度における400nm以下の遮断が使用された。高NA石英光ファイバーを有する照明プローブがマイクロレンズと組み合わせられ、そして像の励起のために一方の器具用通路内に挿入される。両システムにおいて、励起源は、 $\lambda = 351$ 及び 364 nm において約 300 mW を送るアルゴンイオンレーザーであり、診断画像を獲得し、処理し、そして表示するために使用された。

【0080】

研究室において、光ファイバー式システムにより、ヒトの結腸線腫からの自己蛍光像画像が高SNRで集められた。結腸壁の広い面積の監視のために、 100 mm^2 の大きな粘膜の領域を照明しなければならぬ。更に、内視鏡の像が遠隔で収集され、集められた強度は距離 d の二乗で低下する。前以て、蛍光スペクトルは、約 1 mm^2 の面積を照らす接触プローブで集められた。この研究の結果は、このデザインにおいて使用される励起源、光学系、及び検出器が、正常な結腸粘膜と線腫とを区別するに十分なSNRで自己蛍光像を収集できることを示す。光ファイバーシステムにおいては、最小SNRの要求7を越す30以上のSNRが得られた。

【0081】

次いで、ポリープ状及び非ポリープ状の線腫を含んだ家族性線腫性ポリープを持った3名の患者からの形成異常結腸切除標本の広い面積の監視用としてのこの技術の使用可能性を評価するために、切除された結腸粘膜の標本から蛍光像が収

集され、研究室において調査された。生の像の各は、距離及び器械の光収集効率の差を空間的平均像に正規化することにより修正された。次いで、粘膜の病変領域を確認するために強度閾値が使用された。形成異常の領域の検出のための診断感度及び診断性特性は選定された閾値に依存する。閾値を平均正常強度の75%に設定することにより、90%の診断感度と92%の診断性特性が得られた。正常粘膜による平均蛍光強度は線腫からのものより 2.2 ± 0.6 倍大きいことが見いだされた。これらの結果は、生検部位の選定に向けられたこの技術の可能性を示す。

【0082】

研究室の研究結果が生体への導入の動機を提供した。生体の結腸線腫から自己蛍光像を収集するために電子式のシステムが使用された。このシステムにおいて、SNRの最小要求値4を越す30以上のSNRが達成された。定常的に結腸鏡検査を受けている30名の患者より14個の線腫性ポリープ及び6個の増殖性ポリープからの蛍光像が集められた。蛍光像は33msフレームに集められ、生の蛍光像を移動平均像で割算することにより処理された。処理された像は、組織学で立証されたように、線腫の形で形成異常を含む確率を持った粘膜の領域が表示された。閾値を平均の正常強度の75%に設定することにより、線腫の検出に対する診断感度86%が達成され、また増殖については100%の特異性が達成された。平均では、正常粘膜の蛍光強度と線腫からのものとの間の比率は 2.0 ± 0.6 であり、また増殖性ポリープとでは 1.1 ± 0.2 であった。蛍光像の病変領域は、結腸鏡が直角に入射したときの白色光における線腫に最も良く相当した。より大きな角度では、陰影による効果が大きくなる。これらの結果は、形成異常が生体の蛍光像から確認できることを示した。

【0083】

1点式の光ファイバー接触プローブの研究においては、正常な結腸粘膜及び線腫の460nm蛍光像の間の平均強度比は約3であることが見いだされ、一方、内視鏡による研究においてはこの比は 2.0 ± 0.6 であると測定された。研究室における蛍光画像化と1点測定との直接比較により、画像化法で測定された強度比と1点法で測定されたものとの間に小さい相違があることが明らかになった

。第1に、生体で行われた1点法により比3が測定された。光を吸収することが知られている血流がないため、生体ではより低い比が得られた。

【0084】

或いは、比の差は接触及び圧力のアーティファクトより生ずる可能性がある。結腸鏡検査手順のビデオテープが、全EEMを収集するために必要な0.5秒間でプローブをポリープ上に置くことが困難であることを示した。励起源を現している種々の色の光が観察され、これらはポリープへの励起エネルギーの供給及び蛍光放射の収集が未了であることを示す。プローブの接触は、粘膜の生物学的な動きにより、及び平らなプローブが滑り易い半球状の表面上に置かれていることにより妨害される。正常な粘膜はその表面が平らであるため、この上でのスペクトルの収集に関し、接触は問題がない。更に、増加した圧力は収集された蛍光強度を上昇させることが見いだされた。ポリープ上と比較して正常粘膜ではより高い圧力が発生する。大きな圧力が加えられたとき、プローブはポリープから滑り落ちることが見られた。生体における接触と圧力の両者は、正常な粘膜と線腫との間で大きい比が生じた。一方、蛍光像は遠隔で収集され、また圧力と接触のパラメーターは正常粘膜と線腫とについて同様である。

【0085】

最後に、臨床試験の結果、蛍光の内視鏡画像化の診断感度と臨床での有用性を改良する将来の方向が確認された。陰影アーティファクトは、2個の白色光用ポートを通して組織を照明することにより減らすことができる。この変更は、ガラスファイバーを石英ファイバーに置換し、白色光及び励起光の両者を伝達できるようにすることで達成できる。更に、陰影アーティファクト、入射角度、及び検出の歩留まりは、2個以上の蛍光像よりなる多数のスペクトル図を収集することによりすべてを改良することができる。最後に、大きい強度コントラスト比を生む新たな励起波長を確定するために、EEMスペクトルの同時収集を使うことができる。

【0086】

形成異常の組織は、病変検出の診断感度を改良するために検出し得る赤色蛍光の増加を示す。かかる別の実施例は、多重放射波長の収集を含む。多重蛍光放射

波長を収集する一つの方法は、可視スペクトルの赤、緑、及び青 (RGB) の領域に敏感な CCD 検出器を有する電子式内視鏡 (例えば、オリンパス、モデル CF I OOTL) を使うことである。各 RGB フレームからの蛍光像は、診断手順において使用するための詳細な情報を獲得し、処理し、そして提供することができる。更に、異なった波長における像からのスペクトルライン状の情報の使用が、すべての幾何学的な歪みを減らす。TI TC244 は 640 nm において 30%、480 nm において 15% の量子効率を持つ (TI マニュアル 1994)。画像化データ及び EEM データの 370 nm から外挿すると、赤における 10 : 1、青における 50 : 1 の SNR が予期される。

【0087】

電子式結腸鏡の末端における検出の実施は多くの実際上の長所を持つ。第1に、白色光及び蛍光に同じ検出器を使うことができる。単一の検出器は2種の像の完全な一致をもたらすだけでなく、かなり面倒なカメラの交換の必要性も回避する。第2に、光学素子が少なくなり、蛍光光子の伝達効率を高くする。これは光ファイバー画像化用バンドルのそれと比較してかなり高い。第3に、CCD 画素のバックギング形態のため、六角形のバックギングアレイを有する光ファイバー画像化用バンドルとは異なり、検出の表面積の損失を最小にできる。

【0088】

末端に置かれた CCD による蛍光像の検出は利点を持つが、手元側で検出する光ファイバー画像化用バンドルも長所を持つ。末端 CCD のスペクトル帯域は末端検出器の RGB 応答に限定され、一方、光ファイバー画像化用バンドルにより収集された蛍光は非限定数のスペクトル像に濾波することができる。また、手元側における蛍光像の検出はゲート増感装置による検出を許すことができる。この装置はパルスレーザーの使用を可能にさせる。

【0089】

EEM 研究は新しい画像化戦略に関する価値あるガイダンスを提供する。諸結果は、410 nm 付近の励起が有用であることを示す。青の蛍光で提供される線腫組織と正常組織との間のコントラストは、現行の励起波長で得られたものとの比べて大きく強化される (10 : 1 に対する 2 : 1)。更に、赤の蛍光は線腫を

非常に顕著にさせる。λ = 365 nm を使って開発された形態学的モデルの結論のこの新しい励起波長への外挿は、青の蛍光が陰窩及び粘膜の厚さの両者の集合に関する情報を含むこと、及び赤の蛍光が陰窩細胞の形成異常に関する情報を含むことを示唆する。従って、赤及び青の放射波長での像の収集は、高コントラストの診断像及び最新の組織学的情報を提供するであろう。更に、正規化して陰影効果を無くすために比率像を使用することができる。画像化研究の次の段階は410 nm 励起光を使用するであろう。クリプトンイオンレーザー (Coherent Innova Model 302) は、2つのライン407及び413 nm において500 mW の出力を提供するであろう。この出力レベルは、赤及び青の帯域における大きな蛍光信号を得るに適している。このレーザーは、BWH レーザー研究所において、現存の365 nm アルゴンイオンレーザーとともに取り付けられるであろう。

【0090】

更に、複数の励起波長を使用することができる。一方法は、赤の蛍光を励起するためにクリプトンイオンレーザーの407及び413 nm ラインからの励起光を使うこと、及び青の蛍光を励起するためにアルゴンイオンレーザーからの365 nm 及び351 nm ランライン (run lines) の使用を保持することである。2種のハードウェア構成は、(1) 内視鏡とカメラとの間の切替えが可能なフィルター車のあるファイバー式内視鏡、及び(2) デュアルチップ式内視鏡を備える。かかるシステムは、例えば、内視鏡検査中、ステレオ観察用に American Hospital, Inc. により開発された。スペクトル遮断機構によりチップのウィンドウの一つを変更することができる。赤に感度のある画像化チャンネルのタイミングは、これを励起光と同期させることができる。

Hos

【0091】

組織のヘモグロビン成分に関する情報を得るために407-413 nm の拡散反射像を探索することができる。この像は、適切な帯域幅を有するフィルターを、白色光源の前面の回転輪に取り付けることにより得ることができる。その方法は、この反射像を赤と青とのフレーム内の蛍光像で比例させることである。必要なアルゴリズムを開発するため、及び収集されたスペクトル情報をいかに最適化

するかを決めるために、410nm励起による延長接触ブルーブの研究を行うことができる。

【0092】

365nm励起による広帯域強度アルゴニズムを使って得られた陰影アーティファクトは、改良された励起ジオメトリにより大きく減らすことができる。現在は、励起光は、CCD検出器から8.3mmに置かれた生検用通路内に挿入された1個の石英ファイバーを通して供給される。CCDチップから大きな距離に置かれた1個の照明ビームの使用は陰影を強化する傾向がある。対比して、この結腸鏡により作られる通常の白色光像においては、CCDチップの両側に対称的に置かれた間隔の狭い2個の白色光照明ビームの使用のため、陰影が最小化される。照明ファイバーと石英ファイバーとの交換により、CCD検出器から僅か3.8mmに置かれた2個の白色光照明用ポートを経てUV光を供給できる。これの組込みには、照明用ファイバーへの白色光及びレーザー励起を交互に連結できるようにビデオプロセッサを変更することが必要である。

【0093】

その他のスペクトル内視鏡の改良は以下を含む。(i) フィードバック制御により組織表面上の励起光の強度を調整する。これは、観察距離と無関係に一定の照明を提供し、かつ患者の安全性に対して重要でもある。(ii) 内視鏡の白色光源に使用されるフィルター車の「ブランク」期間中に生ずるように蛍光励起のタイミングを取ることで白色光内視鏡の画像表示における蛍光励起のストリーキング効果を最小にする。励起光のフィードバック制御は、蛍光像の平均強度の測定により達成できる。この平均値の強度は、シャッター又はフィルター車の開口期間の調整に使用されるであろう。ストリーキング効果は、白色光モードにおいてRGB照明を作るために使用される励起光を阻止用の同様なフィルター車の組込みにより完全に除去できる。

【0094】

上述のように、画像化研究用の近LTV励起源として大きいアルゴンイオンレーザーが使用された。この大きい光源は、これらの研究に対しては適しているが、費用が大きくかさ張りかつ少数の離散的な波長でしか作動しない。容易に動か

し得ないその電気及び水冷のための諸要求の伴うかかるレーザーシステムは、多くに場所での使用を妨げる。小型かつ輸送可能なパルスレーザー及びフィルター付きの白色光源を含む別の励起源を考えることができる。

【0095】

近UV励起が適切である用途については、スペクトル画像化に十分な平均出力を有する355nmの第3高調波放射を提供できるので、パルスND:YAGレーザーが使用される。研究室実験及び生体実験の両者において、ファイアーム (f i - a m e) 当たり10mJのエネルギーに相当するレーザー出力300mWにおいて良好なSNRが得られた。従って、355nmにおいて平均出力300mWを有し、30Hzでの運転中、5-10nsのパルス持続時間を有する3倍周波数のND:YAGレーザーが適切であろう。約10nsでゲートされたCCDカメラを使用すれば、この短い励起パルスが白色光像及び蛍光像の同時取得を可能とする。この短い時間ゲート内では、白色光の背景は無視でき、白色光照明のチョップの必要性を除いている。この形式のレーザーに対する特別な動力及び水の要求はなく、かかるレーザーを有する蛍光内視鏡システムは容易な輸送が可能である。

【0096】

励起源として水銀灯を使うこともできる。かかる励起源は小型かつ軽量であり、そして複数の励起波長において輝いた狭い帯域の照明を提供できる。この光源の使用によりシステムデザインは簡単となりかつ価格が下がり、複数の場所で使用するための安価なシステムを作ることが可能となる。重要な問題は、希望の波長範囲内で十分な光を照明用ファイバー内に結合できるか否かである。150Wクセノンランプによる市販の白色光源は、端末において80mWの白色光を供給できる。50ランの励起帯域幅の使用により、組織蛍光を誘導するために約20mWの光を使用できる。

【0097】

水銀灯は、選定された波長において、クセノンランプより5から10倍の高い出力を持つ。これは、比較的小さいフィラメントを持った500Wの水銀灯により、照明用ファイバーの末端において利用し得る少なくとも300mWの有効な励

起光が、結腸組織からの良好な品質の蛍光像を集めるに十分であろうということを示す。更に、SNRを更に強化するために、照明の総面積を減らすことができ、或いは画像化のような所要素と一緒に結合させることができる。この目的で、適正な輝度、安定性及び最小の電氣的干渉を有するランプ及び電力供給装置を選ぶことができる。

【0098】

現在では、像の処理スキームは、生の像と空間的に平均された像との比を取り、更に組織のある領域を正常又は病変に分類するための閾値標準を適用することに基づく。平均用ウィンドウ及び検出閾値は、ポリープの大きさ、観察角度及び距離と無関係にプレフレックス (pre-flex) される。これらの予定値は、正確に測定できるポリープの大きさの範囲を限定する。改良された像の処理及び閾値決定の方法は、空間的平均及び可変閾値のための可変のウィンドウサイズを使用するであろう。像の中の最大の病変の直径に関する生のデジタル像からの情報をこれらパラメーターの決定に使用することができる。像のフィールド内に病変の関数としてのウィンドウサイズのこの変更は、強度比を最小にし、そして蛍光法のパラメーターを最適にするであろう。

【0099】

多変数の像から情報を抽出する像解析法も探索された。多変数の像は、反射された波長、又は蛍光又はレイナン (Raman) の帯域増強のような異なった変数で測定された同じ対象の適合した像の収集である。多変数の像を解析するために多くの方法が利用でき、そしてこれらを像の解析に適合させることができる。一般に、画像処理、対象の分割、及び測定の3段階があるであろう。像は、まず、移動ウィンドウ平均、強度の差及び比のような選定された作業に基づいて処理される。次いで、処理された像は、周波数及び強度の情報に基づいて分割されるであろう。これは、閾値決定、速／遅の下降、又は領域の成長のいずれかにより行うことができる。これらの方法は、確率的スキームに基づいて病変の付随的な確認及び表示と組み合わせることができる。

【0100】

多数のスペクトル像の収集技術が開発されかかる像のデータベースが作られた

とき、主成分解析及び回帰解析のようなより進んだ像の解析方法を使うことができる。主成分解析は既知の（先験的な）分布は仮定しないが、代わりに前ガン変化を示している構造についての情報を抽出するために校正済みデータの組を使用する。回帰技術は、2グループの変数、即ち、複数の独立変数と1個又は2個の従属変数の間の数学的関係を作り上げる原理に基づく。例えば、ロジスティック回帰は、形成異常病変の組織病理学による像のスペクトル強度の修正に相関する。

【0101】

蛍光画像化用内視鏡の発達は、蛍光を使用する結腸切除の広い区域の監視を行う可能性を示した。蛍光像はリアルタイムで解析でき、かつ先に確認されたアルゴリズムを使用して決定された形成異常の可能性の即時解釈を内視鏡の術者に提供する。更に、生検を案内する能力を本発明とともに使うことができる。FATのある患者において、粘膜生検を、スペクトル特性に基づいて内視鏡的には正常（非ポリープ性）に見えるが形成異常である可能性の大きい区域に向けるように使用できる。粘膜生検の組織病理学的判断は、「平らな」形成異常の検出を妥当なものとするためにスペクトルデータと関連付けられるであろう。

【0102】

以下の方法が、生検を指示するための蛍光画像化システムの性能を決定するために続けられるであろう。結腸壁の総面積が、結腸鏡及び結腸切除術の際に切除された標本の使用の両者により、体系的に画像化され、そして指示された生検について選ばれた形成異常と診断された区域を分離した。良性と診断された無作為の区域を標本し、そしてスペクトル診断を組織学的解析により確認することができる。この場合も、炎症のような合併症の効果を研究することができる。画像化アルゴリズムが確認されると、これをUC患者における形成異常の検出に適用することができる。接触プローブの研究の場合のように、UCの診断アルゴリズムは種々の程度の背景炎症を有する患者を評価することができる。接触プローブEEMで調査された同じ患者グループが、蛍光画像化で調べられるであろう。広い区域の蛍光監視の重要かつ可能な利点は、通常の監視の結腸鏡検査中に得られた1個又は複数の無作為の生検が蛍光画像化の結果により指示される可能性がある

ことである。これらの生検は無作為生検のその他のものから分離され、蛍光画像化が無作為の標本採取以上に形成異常の検出数を増加し得るか否か査定する。

【0103】

迅速EEM及びスペクトル画像化システムの開発が装置における非常に重要な進歩を現す。この二つのシステムは相互に補完しあう。画像化システムはリアルタイムで広い面積の粘膜を観察し、EEMシステムは結腸粘膜の与えられた部位の完全なスペクトル特性を提供する。この2種の装置は同時に使用でき、これが適切である。EEMプローブは2通路式内視鏡の第2の通路を通して置かれる。

そこで、各システムは互いに確かめ合うように使うことができる。また、表題

Real-Time in vivo endoscope imaging of fluorescence from human colonid adenomasの刊行物がここに組み入れられる。

【0104】

以下の表は、内視鏡CCDで観察された白色光画像化、蛍光画像化に期待される信号サイズの比較であり、蛍光画像化は増感CIDカメラを有する光学モジュールを使用している。以下にリストされたパラメーターは製造業者の仕様から、又は経験的測定値から取られた。

表1

画像化用装置	定義	ペンタックス	ペンタックス	UV
モジュール		(白色光)	(蛍光)	
λ_{ex} (nm)	ex 波長	—	356	356
λ_{em} (nm)	em 波長	—	460	460
$\Delta\lambda$ (nm)	em 帯域幅	400-700	400-700	400-700
P_e (mW)	動力	1	300	300
Δt (s)	積分時間	0.011	0.011	0.033
d (mm)	距離	20	20	20
直径 (mm)	照明区域	70	70	28
θ_e (度)	最大角度	60	60	35
N_f (画素 / ファイバー)	数	88560	88560	10000

r, レンズ (mm)	半径	1.25	1.25	0.3
ε ,	組織効率	1	5.00E-05	5.00E-05
f, バッキングフラクシオン効率		1	1	0.6
T, %トランス (trans) フィルター		1	1	0.8
T, %トランス画像化		1	1	0.9
T, %トランス光学系		1	1	0.9
η ,	光カソード効率	0.2	0.2	0.1
g	グループ係数	1	1	1
N,	信号光子	1.7×10^4	2500	338
o,	電子ノイズ	55	55	50
G	利得	1	1	10000
SNR	信号/ノイズ	407	34	18

表 2

λ (nm)	<u>正 常</u>		<u>線 腫</u>	
	$\lambda_{ex}=370$	$\lambda_{em}=460$	$\lambda_{ex}=370$	$\lambda_{em}=460$
μ ,	0.9	0.45	2.1	1.1
λ ,	15.0	9.5	8.5	5.9
g	0.9	0.9	0.9	0.9
粘膜厚 (mm)	450	450	1000	1000
量子効率 (粘膜)	0.1	0.1	0.8	0.8
量子効率 (粘膜下部組織)	0.1	0.1	0.8	0.8

表 3

<u>正 規 化 さ れ た 強 度</u>		<u>線 腫</u>		<u>増 殖</u>		<u>血 管</u>	
正常	100.00	± 27.5	100.0	± 18.1	100.00	± 16.1	
左	54.0	± 16.3	87.9	± 16.3			
中央	59.9	± 16.7	95.9	± 16.7	75.3	± 5.1	
右	54.4	± 17.7	98.1	± 17.7			

強度比 (正常/病変)

平均	2.0	± 0.6	1.1	± 0.2	1.3	± 0.1
左	2.0	± 0.6	1.2	± 0.1		
中央	1.8	± 0.5	1.1	± 0.1		
右	2.0	± 0.7	1.1	± 0.2		

表 4

		<u>画像化法</u>		<u>1点法</u>	
		<u>正規化</u>	<u>強度</u>	<u>正規化</u>	<u>強度</u>
		<u>強度</u>	<u>比</u>	<u>強度</u>	<u>比</u>
<u>左線腫</u>					
左	65	1.54	58	1.72	
中央	74	1.35	74	1.35	
右	71	1.41	65	1.54	
平均	70	1.43	66	1.54	
<u>右線腫</u>					
左	61	1.64	57	1.75	
中央	81	1.23	67	1.49	
右	59	1.69	52	1.92	
平均	67	1.52	59	1.72	

表 5

		<u>内視鏡</u>		<u>プローブ</u>	
		<u>正常</u>	<u>線腫</u>	<u>正常</u>	<u>線腫</u>
d (mm)	20	20	2	2	
θ (deg)	4	4	12.7	12.7	
n_0	1.0	1.0	1.4	1.4	
n_1	1.4	1.4	1.4	1.4	
370	2.8E-02	2.8E-02	4.2E-03	6.2E-04	
460	8.8E-05	2.9E-05	2.8E-03	9.7E-04	
比		3.0		2.9	

図13は、以下説明される改良されたシステムと比較し得るフォーマットで臨

床での実施において示されたシステムの図式的な外形図である。図示の実施例は、シャッター202により切り替えられ、レンズ204により熔融シリカファイバープローブ206内に焦点を合わせられた紫外線レーザー源200を使用する。このプローブは、これを組織の部位210に送るために内視鏡208の生検用通路内に挿入され、区域212上で組織を照明できる。UV照明は、内視鏡自体の照明用ポート216とは異なる開口214からくる。医療に使用される2本通路式ペンタックス内視鏡においては、この手順は、1個の生検用通路を何もなしのままで残す。

【0105】

内視鏡カメラ220は、それ自体の光ファイバー照明装置222を通して、広帯域クセノンアークランプ224及び収集用光学系226からのその白色光照明を得る。蛍光像を取っている間、白色光正面のスイッチが切られるように、コンピューター230の管理232下の非標準シャッター228が取り付けられる。蛍光像の信号234が内視鏡のビデオプロセッサ236で処理され、コンピューター230内のフレームグラバーによりデジタル化された標準ビデオ信号238を作る。観察された組織の状態についての情報を有する処理済みの画像信号240がモニター242に送られる。ケーブル246によりコンピューターに取り付けられた足踏みスイッチ244により診断の全手続きが開始される。

【0106】

図14Aは蛍光画像化システムのデザインを示し、このシステムは、形成異常の領域として像の陰影を確認するために、これまでのシステムの蛍光を無くす。この改良されたデザインは、100W水銀アークランプの光源302、ダイクロイックミラー304と306、波長フィルター308と310、及び回転シャッター312と314を使用し、正確にタイミングの合わせられた組織照明用のパルスを2個の異なった波長帯域で提供する。第1の波長帯域は近紫外線(365nm)の水銀共鳴線を中心とし、UV蛍光像を得るために使用される。第2の波長帯域は、可視スペクトルの赤の端部にあり、陰影及びUV照明野の大きさを確定する目的で、反射像を同時、又はほぼ同時に得るために使用される。

【0107】

内視鏡カメラシステムで取られた反射（非蛍光）像は、その視野内の組織表面316の輝度を測定する。この像は、組織表面がランバートの（非鏡面反射）反射である広さ（一般にこの場合）、1個の照明源からの組織の距離（又は複数光源からの重み付け距離）を示す。もしこれらの照明源がカメラから組織までの視線内にないならば、これらは陰影を作るであろう。そこで、UV照明と可視照明とが同じ拡散角度で同じ開口320から放射する限り、組織表面におけるUV照明318及び蛍光像における陰影の存在の両者を測定するために反射像を使用することができる。この条件は、内視鏡324の生検用通路を通過する2色照明用ファイバー322により、又は内視鏡の照明用バンドル236を通過する2色照明により満たされることに注意すべきである。シャッター328は、2個の診断用の像の獲得中は、内視鏡の通常の白色光照明を遮断する。コンピューター制御329下のシャッター328の閉鎖は制御線331によるシャッター330の開口と同時に生ずる。この作用により、2色の光はファイバー322に、従って組織316に到達する。

【0108】

蛍光像とともに可視基準像を使用するためのアルゴリズムは以下の通りである。内視鏡324の端末先端のCCDカメラからのビデオ信号332がビデオプロセッサ334により標準NTSCカラービデオ信号に変換され、コンピューター338のビデオフレームグラバーに送られる。2個の像は、まず、ビデオプロセッサによりビデオ信号に適用されるガンマ係数について修正され、コンピューターのフレームグラバーにより獲得されたデジタル像が組織表面の輝度のリニアな測定値であることを確保する。これは、フレームグラバーの入カルックアップテーブルによりリアルタイムで達成される。次いで、2個の像は、それらのピーク値に正規化され、これは一般に視野内の非形成異常組織の領域であろう。これが2個の照明野を正規化する。次いで、蛍光像の値が1画素づつ可視の基準像の値で割られる。もしその比が予定の閾値以下の落ちたならば、（典型的には1/2から1/3）、像の中の画素は蛍光の減った領域を表し、これが形成異常の表示である。次いで、この画素は、出力ビデオ信号340における偽カラー状態に設定され、モニター342に送られ、臨床医に形成異常の可能性を示す。両方

の像における従来の閾値の要求は重要であり、そしてビデオ野の縁における陰影又は低照明の領域の偽カラー出力を無くす。この機能全体が、ケーブル346を通してコンピューターに連結された足踏みスイッチ344の各押下げごとに発生する。

【0109】

改良されたデザインにあつては、UV励起光のパルス及び可視基準光のパルスの両者は、内視鏡の生検用通路を通して挿入された同じ光ファイバー322を通して組織に送られる。2個の照明源が同じ角度分布を有する条件は、図14Aに示された光収集装置のデザインにより確保される。両方の波長源に対して1個の水銀アークランプ302が使用される。ダイクロイックミラー304がスペクトルのUV部分を反射し、可視部分を透過する。各経路内のフィルターが2個のビームの帯域幅を更に純化する。460nmの組織蛍光の効率は僅かに約0.1%に過ぎないので、UVフィルター308は可視光を高度に排除しなければならない。赤の経路内のフィルター310は厳密さは少ないが、選定された中央波長は、最良の基準像を提供するためにヘモグロビンの吸収帯域を避けるべきである。ビーム分割用光学系及びビーム組合せ用光学系のデザインがUV及び可視光線の両者において偶数個の反射器を持つことに注意されたい。これにより、ランプの運動による出力ビームの角度方向の如何なる偏差も互いに確実に追従する。また、これは、ビーム分割用光学系及びビーム再組合せ用光学系の全体としての移動及び小さな回転の際の出力ビームの方向を不変にする。

【0110】

改良された電源デザインにおいては、水銀ランプ302を通る電流は適切な瞬間に増強され、UV露光のためにランプ出力を大きくさせる。これにより、1個の像で大面積の組織の形成異常を走査することができる。図14Bのデータは、100W水銀ランプからのUV出力がその公称定格の少なくとも3倍までその入力電力の線形関数であることを示す。ランプの放電が電流にかかわらずアークを横切る一定の電圧低下を維持するので、ランプ出力は本質的に電流に比例する。しかし、水銀を蒸気の状態に保つために、ランプへの電力の少なくとも50%を常に維持しなければならない。改良された蛍光システムにおけるランプ電力供給装置

348は遊び電流を維持するためのDC電流部分、及びコンピューター制御350のパルス電流部分を備え、後者は画像化システムにより要求されるようにランプの出力を変えるために複数の定電流源を迅速に切り替えることができる。遊び電力が定格値以下に保たれかつ電流のパルスが十分に小さな負荷時間率に保たれるならば、パルスUV出力を連続させることができる。

【0111】

UV経路内の回転シャッター312及び光源の赤の経路内の回転シャッター314は、図14Cのタイミング線図に従ってパルス照明光を提供するように設計される。この線図は、この蛍光画像化システムが単色カメラと共にいかに使用されるかを示し、このシステムは、照明のためにクセノンアークランプ352、及び3個の単色像からカラー像を合成するためにBGRフィルター車354を使用する。この形式のシステムにおいては、青色光がまず組織を約6ms照明し、得られた組織の反射像を次の6msの間にデジタル化する。この照明は、画素の光電流が読出し用電子装置にラインシフトされる間、光電流を集めるために連続使用されるため読出し中は消さなければならない。読出し中の照明は、像における不鮮明なアーティファクトを発生させる。UV照明は正常な青の露光期間中に切り替えられ、赤い光の照明は赤の露光期間中に切り替えられる。緑の露光期間は一般に使用されず、追加の基準像又は追加のUV蛍光像を得るために使用される。シャッターは、標準の合成ビデオ出力信号から偶数/奇数フレーム同期パルスを展開するためにLM1881ビデオシンクセパレーター (Video

Sync

Separator) 回路を使用しているビデオ獲得システムとタイミングを合わせられる。位相固定ループ(PLL)358及び360が、駆動用直流モーター362及び364への電圧を変えることにより、チョッパ車の位相をこの信号に同期させる。この信号は、電流バルサー348を同期させるにためにも使用される。図14Aの略図において、チョッパ車はビームの平行化された部分に示される。事実上、これらのチョッパ車は光学系のトレーン(図示せず)の2個のアームの内部焦点に置かれ、光パルスの迅速な立上り及び立下がりを提供する。

【0112】

デュアル波長照明方法は、標準のカラーCCDカメラ式内視鏡とともに使用することができる。この場合、UV光照明及び赤色の光の基準照明は同時に存在する。UV誘導蛍光（始めは460nm）がCCDカメラ内の青応答性画素により検出され、基準反射像は赤応答性の画素で検出される。可視の青の光は、蛍光像のコントラストを大きくさせないように診断照明から除去しなければならない点に注意されたい。UV励起のために形成異常組織に見られる少量の赤の組織照明は、直接の赤照明のレベルよりかなり小さい。僅かな増加は蛍光／基準比を下げるように作用し、これが形成異常の測定される確率を（僅かに）大きくする。

【0113】

図15は、蛍光画像化システムの好ましい実施例を示し、これにおいては、デュアル波長照明の能力及び白色光照明の能力は、ビデオ内視鏡システム400自体に組み込まれる。このため、UV波長で伝達する内視鏡404の照明用バンドル402が必要である。これは、現在の市販のシステムの場合は通常はない。かかるデザインは、UV励起と可視の基準照明と同じ開口406から出るという設計要求を実行する。かかるシステムは、照明用ファイバーを生検用通路408に通す必要がなく更にこれらの通路はその標準的な使用を行えるためオペレーターにとって使用が容易である。組織表面410は、デュアル照明ポート406が標準であるため、より少数の陰影でより大きな面積412を照明するであろう。ビデオ信号414は、内視鏡システム416により処理され、標準信号416にフォーマットされ、そしてコンピューター420により処理される。偽カラーのオーバーレイ422を有する出力ビデオ信号は、臨床医がリアルタイムで見るためにモニター424に送られる。診断用照明は、ケーブル428によりコンピューター420に接続された足踏みスイッチ426により開始され、光パルスは、光源のシャッターへの信号線430及び432により制御される。

【0114】

本発明はその好ましい実施例を参考として特に示され説明されたが、請求項により定められた本発明の精神及び範囲から離れることなく形式及び細部における種々の変更をなし得ることが本技術の熟練者により理解されるであろう。

【図面の簡単な説明】

【図1】

内視鏡システムの図式的な図面である。

【図2】

内視鏡の末端におけるCCDのような固体画像化装置の図式的な図面である。

【図3】

本発明による内視鏡システムの図式的な図面である。

【図4】

照明領域及び蛍光領域の相対寸法を示す。

【図5】

内視鏡システムの図式的なダイヤグラムである。

【図6】

平均景況強度及び信号対雑音比(SNR)の測定値と予測値のグラフである。

【図7A及び7B】

それぞれ通常の結腸粘膜及び線腫を有する組織の蛍光強度プロファイルを示す。

【図8】

検出閾値の関数としてのシステムの診断感度の図解である。

【図9及び10】

線腫のある組織の移動平均値及び百分率値を含んだ蛍光強度プロファイルを示す。

【図11】

線腫、正常を示す蛍光強度グラフ及びプローブのある場所において加えられた圧力の関数としての強度比の値である。

【図12】

内視鏡及び接触プローブとの間で収集形状の差を示している内視鏡システムである。

【図13】

本発明による内視鏡システムの好ましい実施例である。

【図14A】

本発明のよる蛍光画像化システムの好ましい実施例である。

【図14B】

スペクトルの紫外線領域において放射している光源の入力電力における放射電力の依存をグラフ的に示す。

【図14C】

蛍光像と基準像とを獲得する処理のためのタイミング図を示す。

【図15】

本発明による蛍光画像化用システムの好ましい実施例である。

【図1】

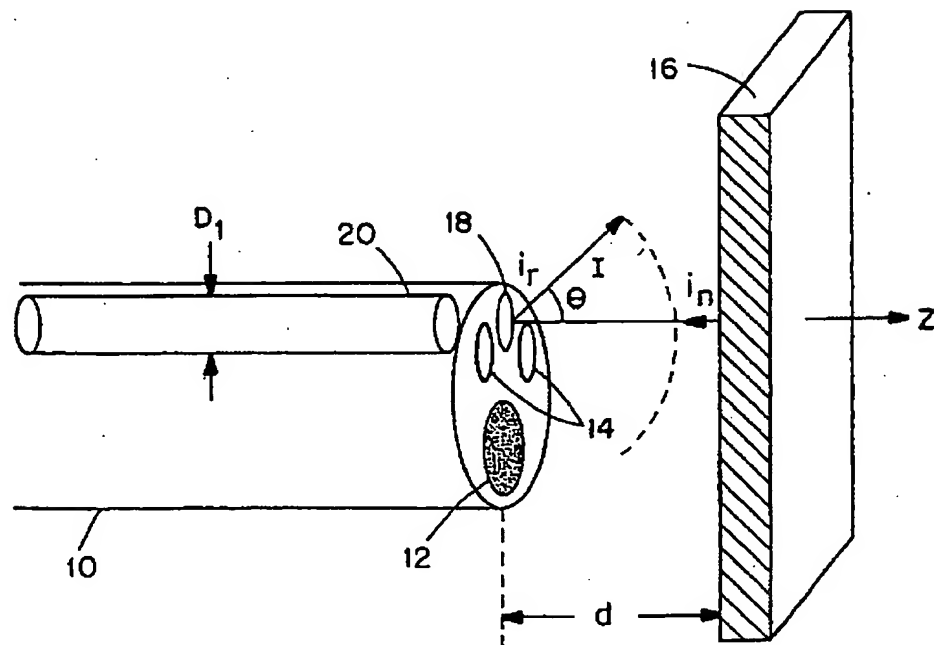


FIG. 1

【図2】

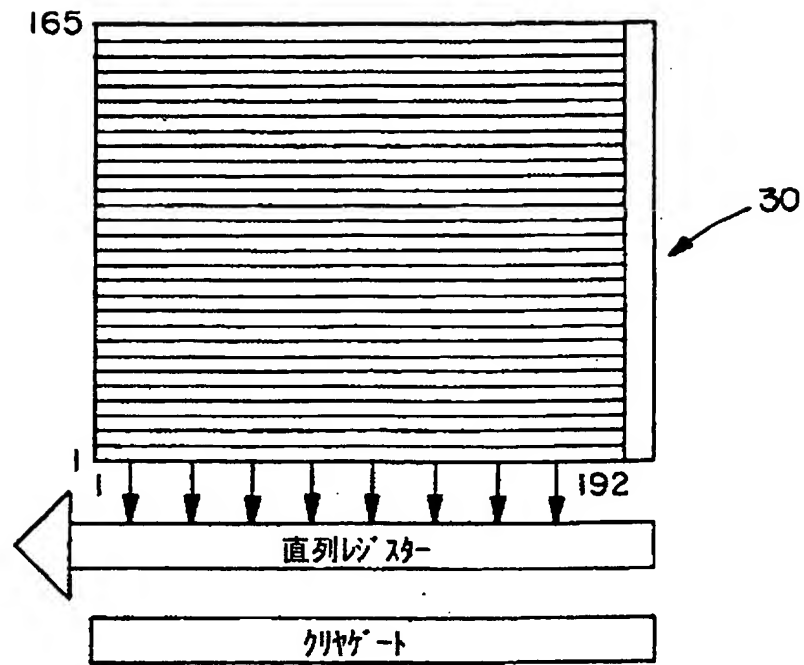


FIG. 2

【図4】

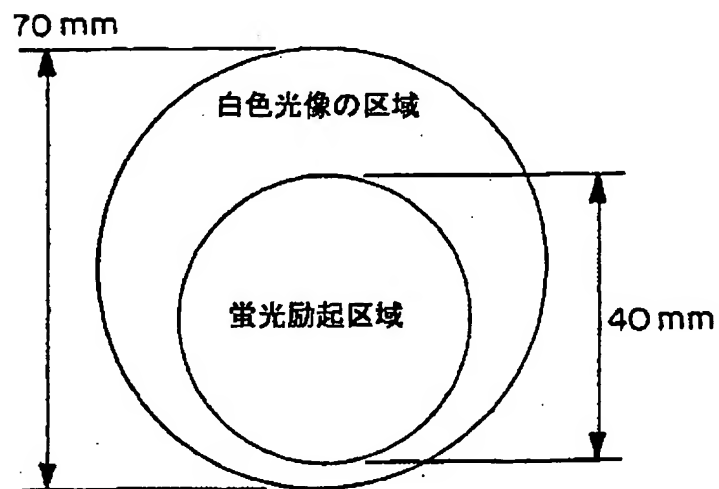


FIG. 4

【図5】

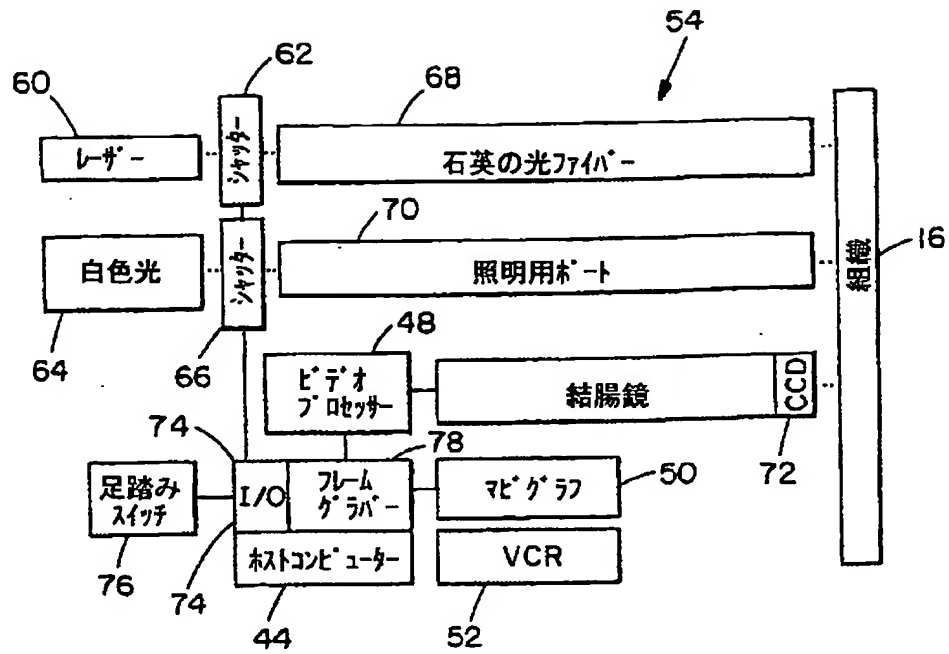


FIG. 5

【図6】

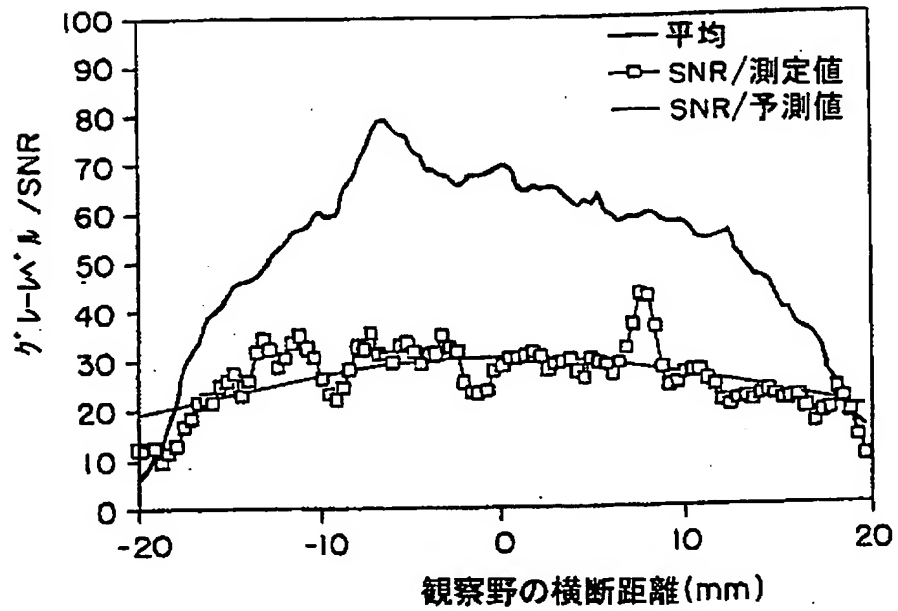


FIG. 6

【図7】

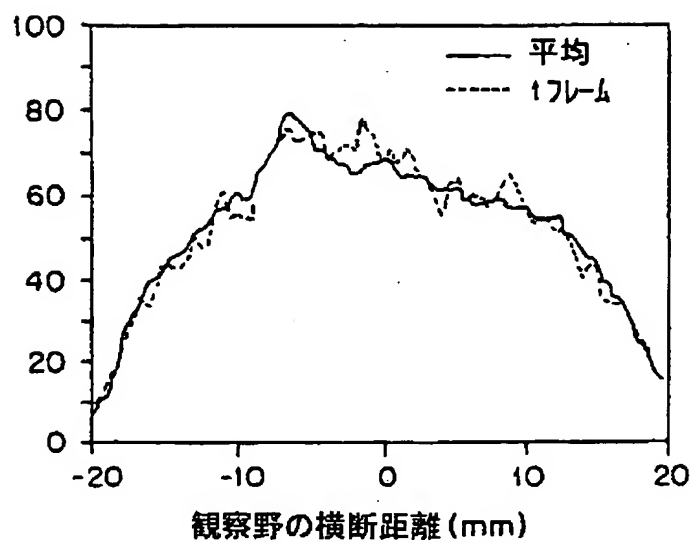


FIG. 7A

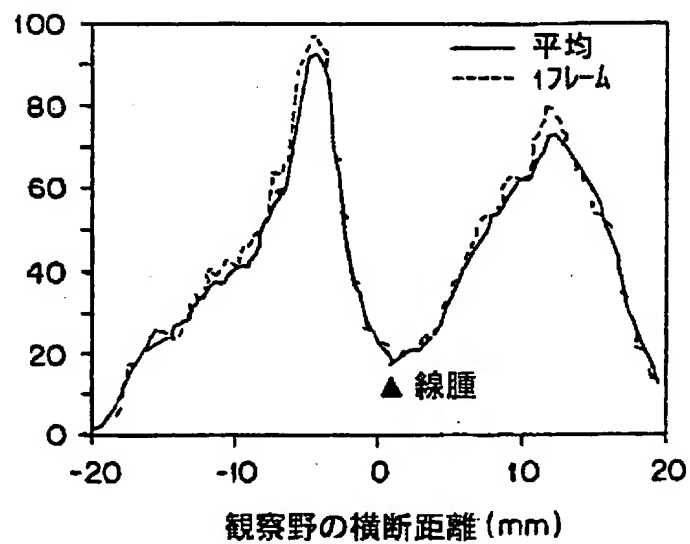


FIG. 7B

【図8】

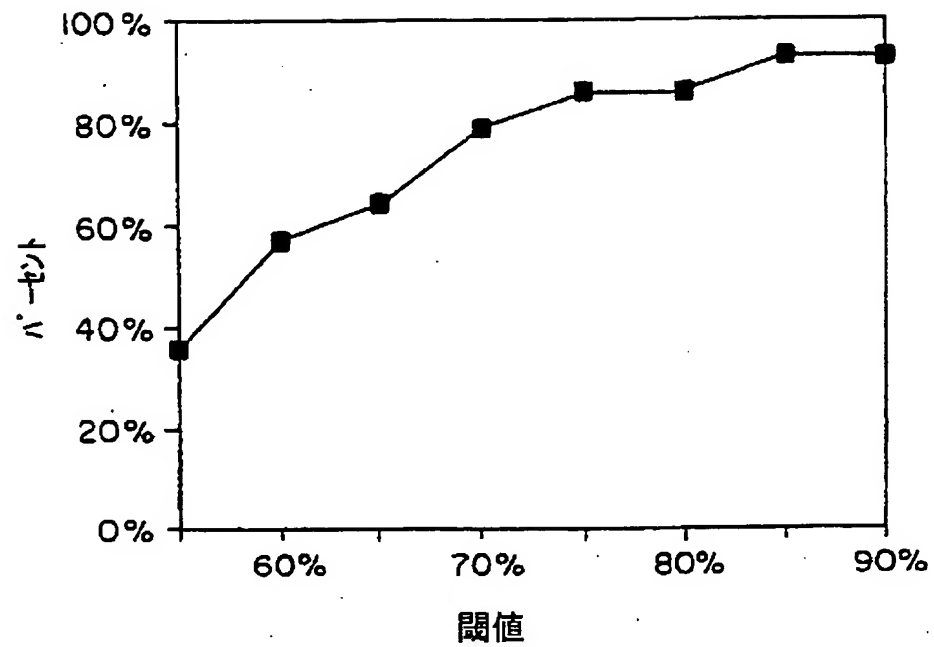


FIG. 8

【図9】

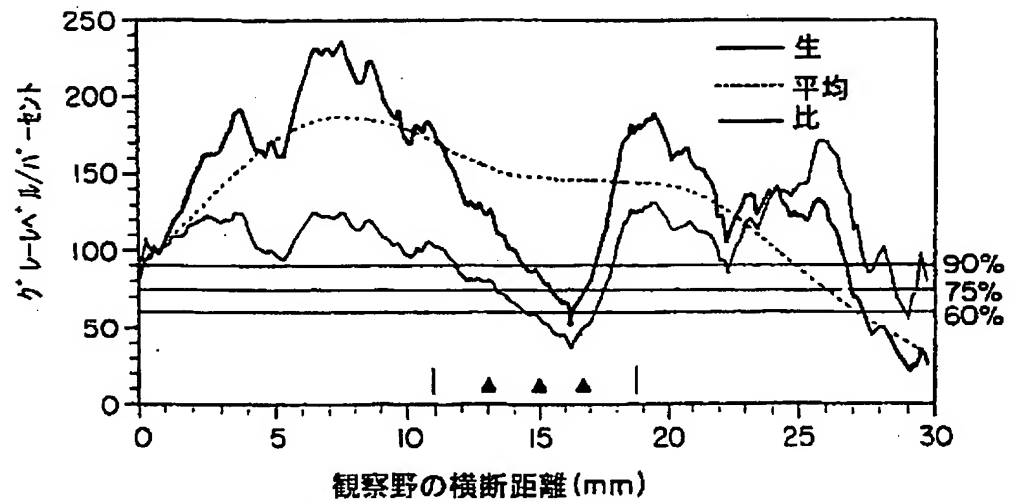


FIG. 9

【図10】

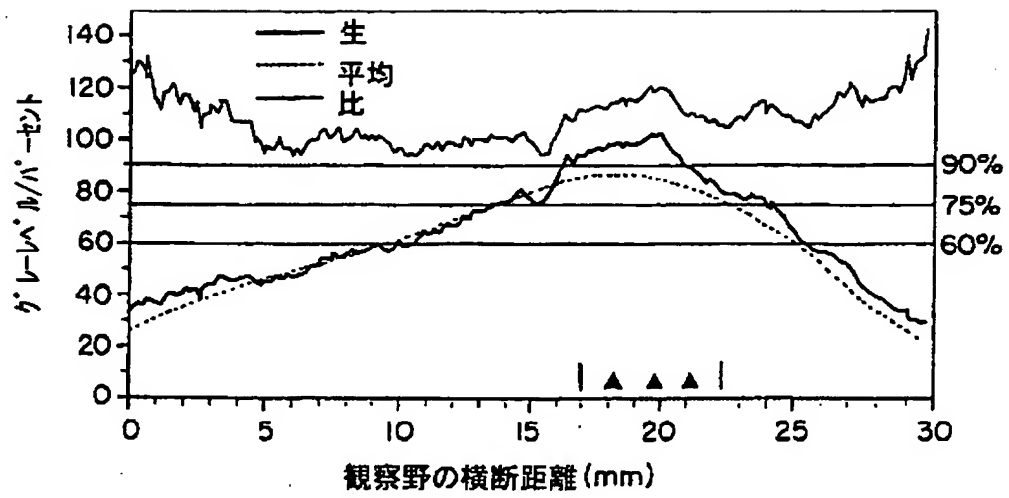


FIG. 10

【図11】

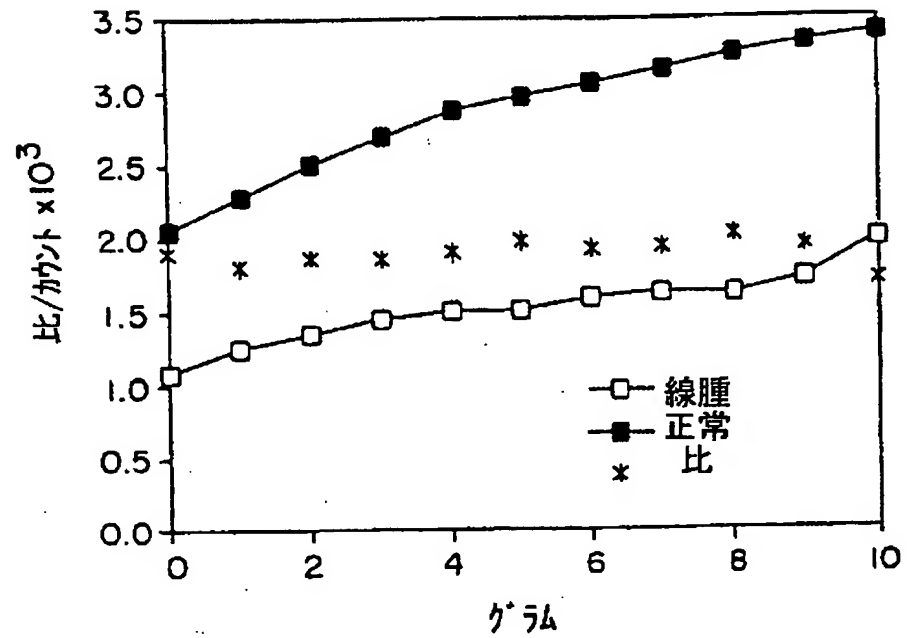


FIG. 11

【図12】

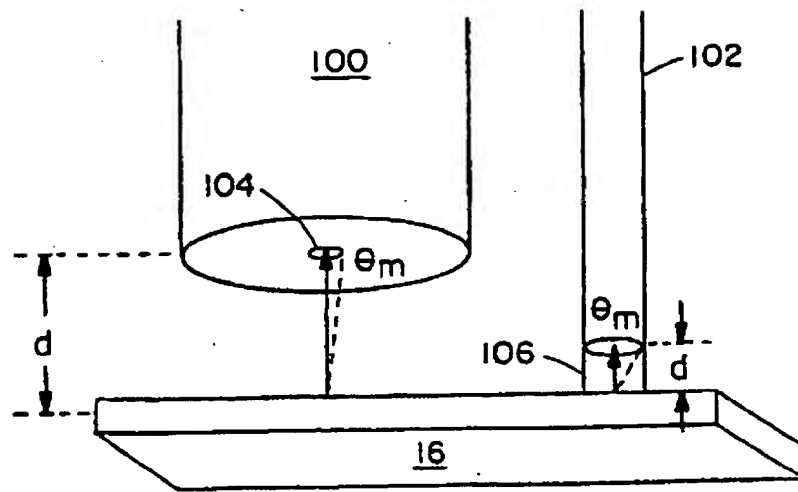


FIG. 12

【図13】

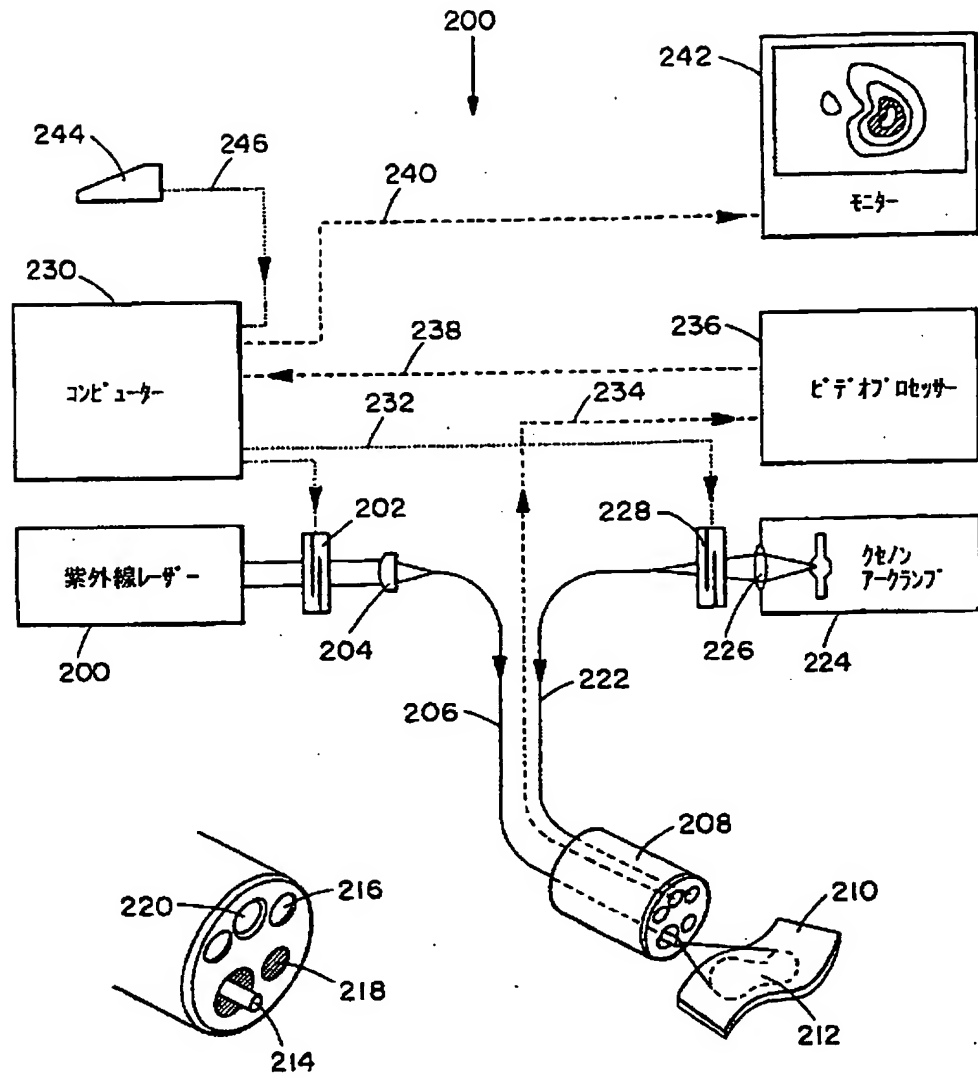


FIG. 13

【図14A】

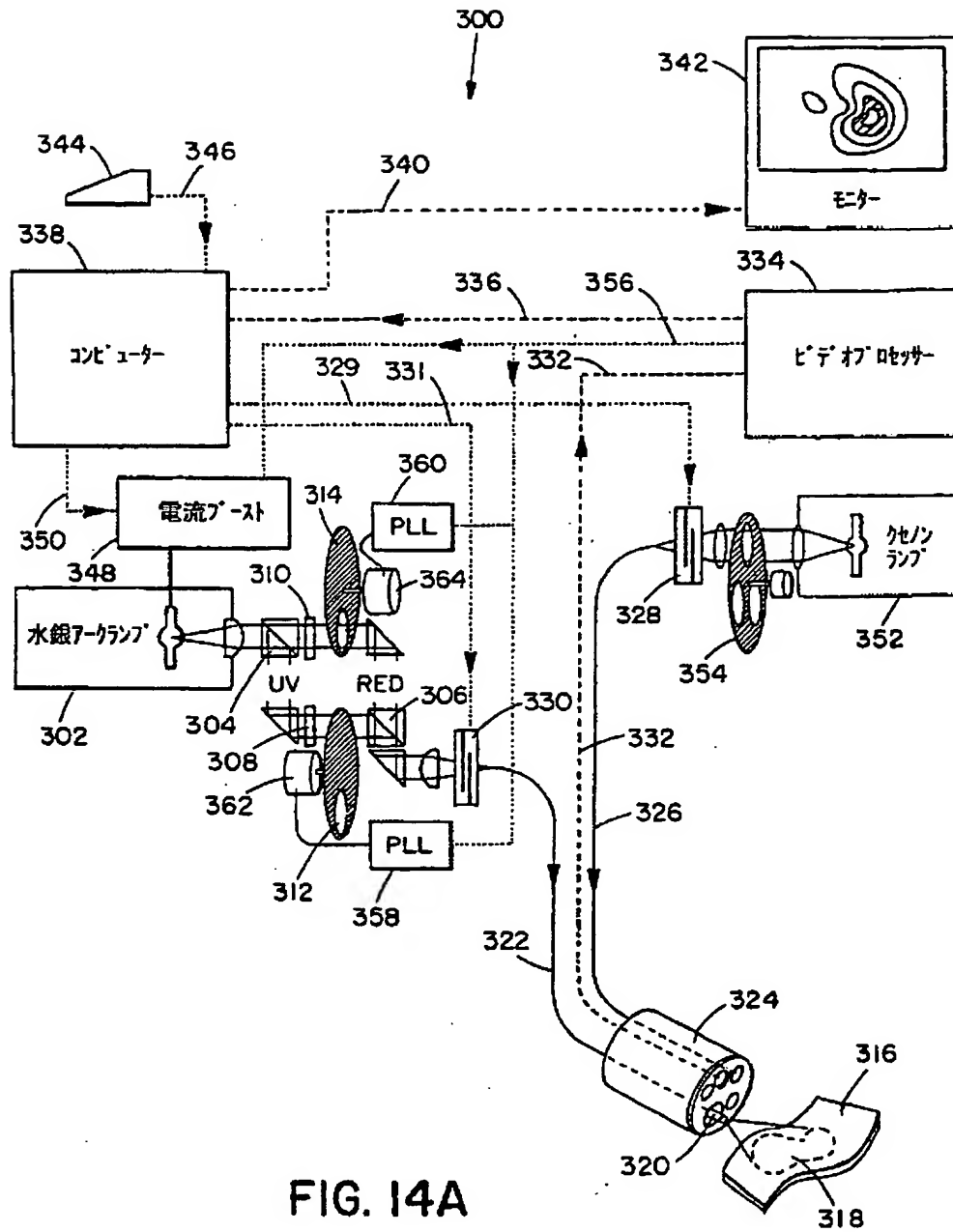


FIG. 14A

【図14B】

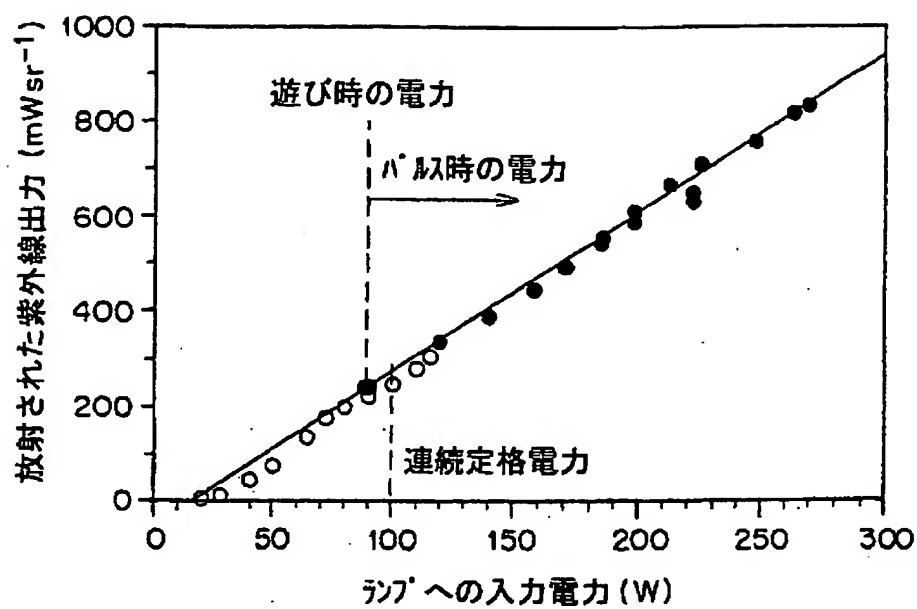


FIG. 14B

【図14C】

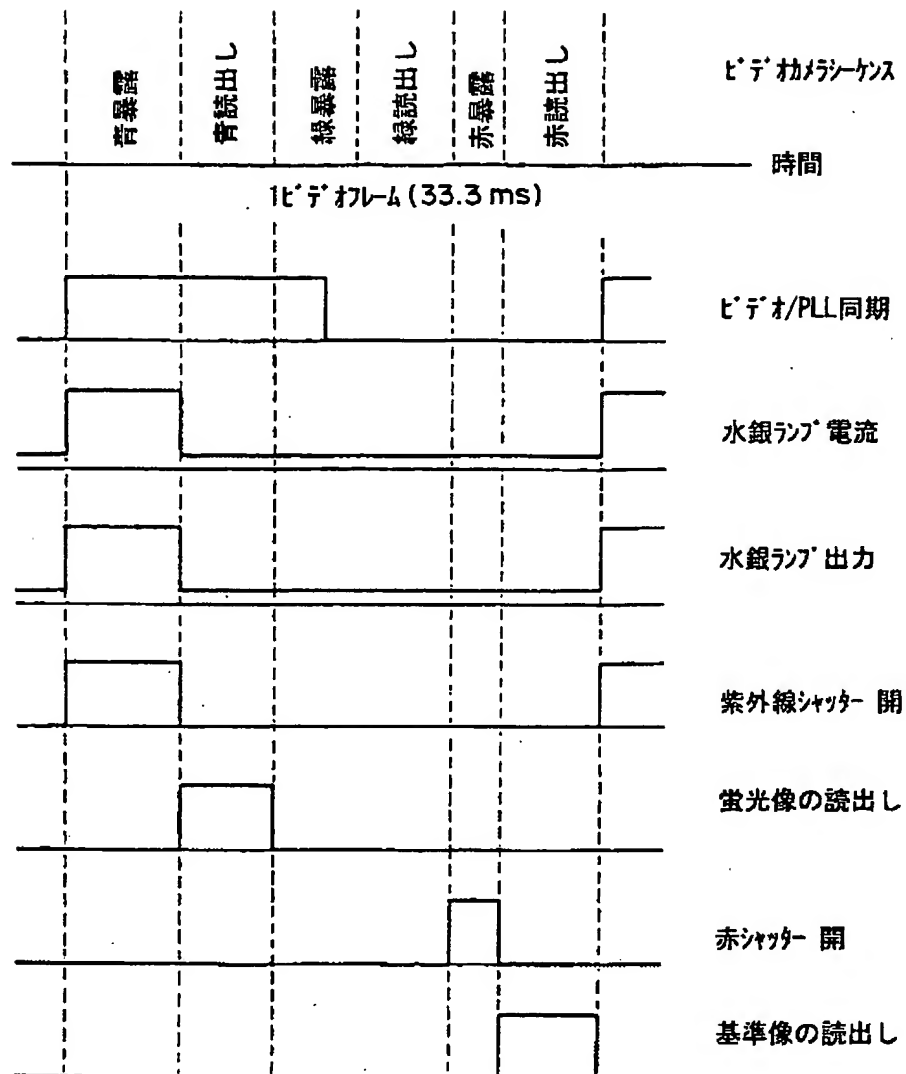


FIG. 14C

【図15】

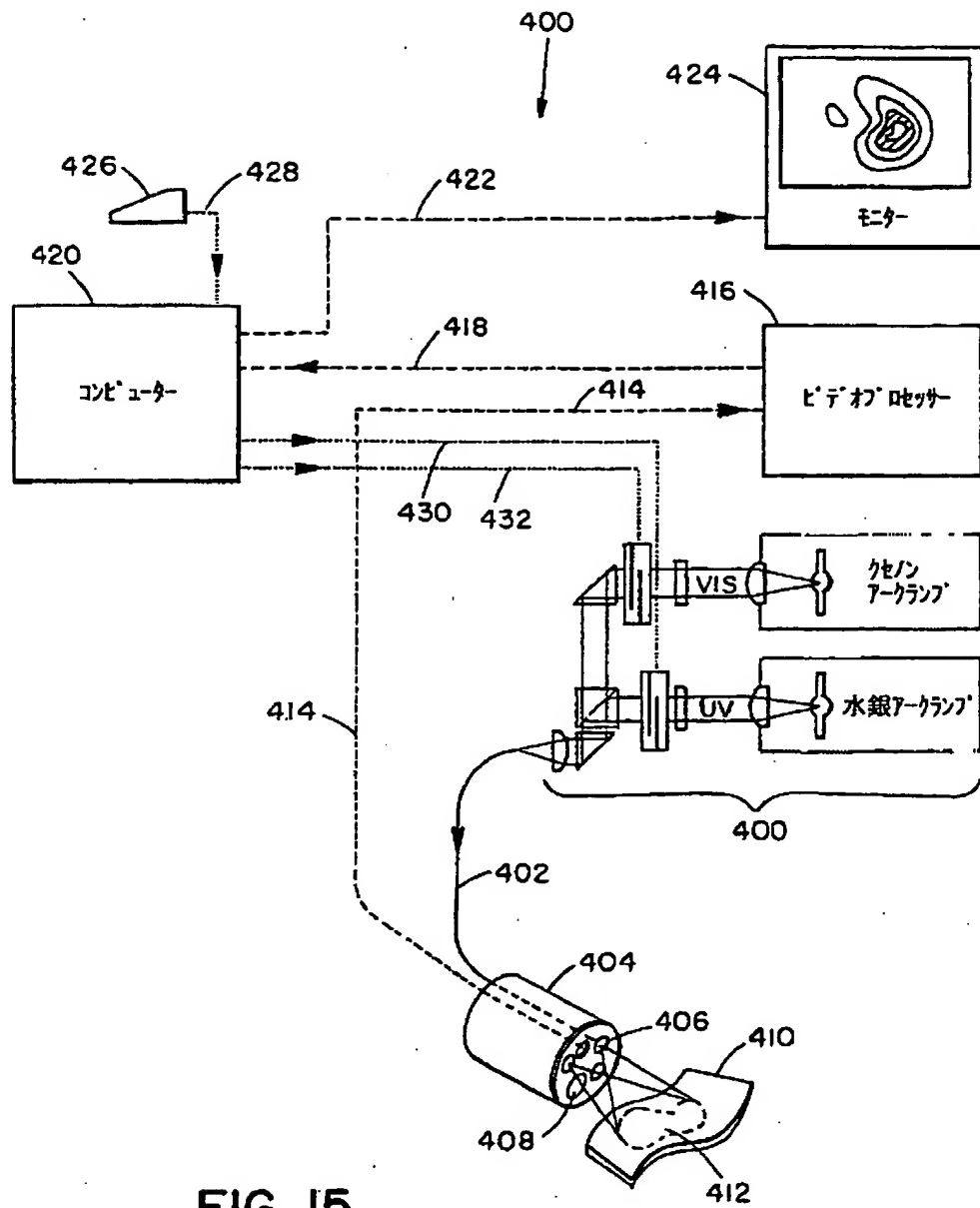


FIG. 15

【国際調査報告】

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.
PCT/US 99/01723

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER IPC 6 A61B5/00 According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC		
B. FIELDS SEARCHED Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols) IPC 6 A61B Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the texts searched Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)		
C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	US 5 187 572 A (NAKAMURA KAZUNARI ET AL) 16 February 1993	1,2,5,6, 9,12,13
X	see column 3, line 67 - column 4, line 31	16
A	see column 5, line 30 - line 47	3,4,7
A	see column 11, line 43 - column 12, line 42	8,10,11, 14,15
A	see column 15, line 37 - column 16, line 16	17-20
	see column 19, line 61 - column 20, line 20	
	see figures 1,11,28	
X	DE 195 35 114 A (ASAHI OPTICAL CO LTD) 28 March 1996	12,15, 16,19
A	see column 3, line 38 - column 4, line 3	1,2,5-7
A	see column 5, line 14 - line 57	11,13
	-/-	
<input checked="" type="checkbox"/> Further documents are listed in the continuation of box C. <input checked="" type="checkbox"/> Patent family members are listed in annex.		
* Special categories of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance "E" earlier document but published on or after the international filing date "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified) "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art. "Z" document member of the same patent family		
Date of the actual completion of the international search 17 May 1999		Date of mailing of the international search report 25/05/1999
Name and mailing address of the ISA European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2220 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo NL Fac. (+31-70) 340-2018		Authorized officer Martelli, L

Form PCT/ISA/210 (second sheet) July 1992

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

In International Application No.
PCT/US 99/01723

C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 92 19148 A (ADAIR EDWIN LLOYD) 12 November 1992	12,15
A	see page 3, line 18 - page 5, line 3	1,2,5-7
A	see page 8, line 32 - page 11, line 17	11,13, 14,16
A	----- US 5 452 723 A (WU JUN ET AL) 26 September 1995 cited in the application see column 3, line 23 - line 32 see column 4, line 45 - column 5, line 14 see column 6, line 8 - line 15 see figure 1 -----	1,5,6, 9-13, 15-17

Form PCT/ISA210 (continuation of second sheet) (July 1992)

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No
PCT/US 99/01723

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
US 5187572 A	16-02-1993	JP 5084218 A DE 4136034 A	06-04-1993 07-05-1993
DE 19535114 A	28-03-1996	JP 8140928 A JP 9070384 A JP 9066023 A JP 8140929 A	04-06-1996 18-03-1997 11-03-1997 04-06-1996
WO 9219148 A	12-11-1992	US 5143054 A CA 2065976 A DE 69217216 D DE 69217216 T EP 0585321 A JP 6506855 T US 5251613 A	01-09-1992 07-11-1992 13-03-1997 31-07-1997 09-03-1994 04-08-1994 12-10-1993
US 5452723 A	26-09-1995	NONE	

フロントページの続き

(81)指定国 EP(AT, BE, CH, CY,
DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, I
T, LU, MC, NL, PT, SE), OA(BF, BJ
, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML,
MR, NE, SN, TD, TG), AP(GH, GM, K
E, LS, MW, SD, SZ, UG, ZW), EA(AM
, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM)
, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG,
BR, BY, CA, CH, CN, CU, CZ, DE, D
K, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM
, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE,
KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, L
T, LU, LV, MD, MG, MK, MN, MW, MX
, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE,
SG, SI, SK, SL, TJ, TM, TR, TT, U
A, UG, US, UZ, VN, YU, ZW

(72)発明者 フェルド, マイケル・エス
アメリカ合衆国マサチューセッツ州02163ニ
ュートン・ヒンクリーロード56

Fターム(参考) 4C061 CC06 GG01 HH51 LL02 QQ04
QQ07 RR15 SS07 WW17